FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 166

L'HYDROXYPROLINURIE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de MARSEILLE

Le 23 Novembre 1967

par

Jean-Bernard EISINGER

Né le 1er Septembre 1938, à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône)

Ancien interne des Hôpitaux de Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse

M. le Professeur A.-M. RECORDIER, *Président*

M. le Professeur H. ROUX

M. le Professeur S. LISSITZKY

M. le Professeur agrégé Y. CARCASSONNE

M. le Docteur G. SERRATRICE

Assesseurs

SAINT LAMBERT EDITEUR
13 - AUBAGNE

L'HYDROXYPROLINURIE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N°

L'HYDROXYPROLINURIE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de MARSEILLE

Le 23 Novembre 1967

par

Jean-Bernard EISINGER

Né le 1er Septembre 1938, à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône)

Ancien interne des Hôpitaux de Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse

M. le Professeur A.-M. RECORDIER, *Président*
M. le Professeur H. ROUX
M. le Professeur S. LISSITZKY
M. le Professeur agrégé Y. CARCASSONNE
M. le Docteur G. SERRATRICE

Assesseurs

SAINT LAMBERT EDITEUR
13 - AUBAGNE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545823_0027

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Doyen : H. GASTAUT.

Doyen honoraire : G. MORIN.

Assesseurs : Ch. GREBUS et J. CHARPIN.

Attaché Principal, Chef des Services Administratifs : P. MOUCHET.

PERSONNEL ENSEIGNANT

Professeurs honoraires

MM. MONGES, ROCHE, CHAUVIN, MATTEI, DE VERNEJOUL, GIRAUD, MERCIER, MARONNEAUD, VIGNOLI.

Professeurs titulaires de Chaires

	MM.
Anatomie appliquée et Chirurgie expérimentale	GRISOLI
Anatomie appliquée et chirurgie expérimentale	HENRY
Anatomie pathologique	GASTAUT
Bactériologie et virologie	BRAHIC
Biochimie médicale	LISSITZKY
Botanique et cryptogamie	PELLISSIER
Chimie	DUMAZERT
Chimie analytique et hydrologie	PASTOR
Chimie biologique	DERRIEN
Chimie minérale	MOURGUE
Clinique cardiologique et cardiologie expérimentale	JOUVE
Clinique chirurgicale	CARCASSONNE
Clinique chirurgicale	LAMY
Clinique chirurgicale	LENA
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	SALMON
Clinique de chirurgie thoracique	DOR
Clinique dermatologique	HADIDA
Clinique d'endocrinologie	VAGUE
Clinique exotique	BLANC
Clinique médicale	N. . .
Clinique médicale	AUDIER
Clinique médicale thérapeutique et des maladies du sang.	OLMER
Clinique des maladies infectieuses	RAYBAUD
Clinique des maladies des voies digestives et de la nutrition.	MONGES H.
Clinique médicale infantile	BERNARD R.
Clinique de neurologie	BOUDOURESQUES
Clinique neuro-chirurgicale	PAILLAS
Clinique obstétricale et gynécologique	N. . .
Clinique ophtalmologique	JAYLE
Clinique oto-rhino-laryngologique	APPAIX
Clinique pneumo-phtisiologique	CHARPIN
Clinique psychiatrique	SUTTER
Clinique rhumatologique	RECORDIER
Clinique stomatologique	LACHARD
Clinique urologique	DUCASSOU
Electrocardiologie	LEGRE
Histologie et embryologie	PICARD
Histologie et embryologie	STAHL
Hygiène et médecine sociale	SAUTET
Médecine expérimentale	DONNET
Médecine légale et médecine du travail	MOSINGER

Parasitologie	RANQUE
Pathologie chirurgicale	GRANJON
Pathologie interne	MOUREN
Pharmacie chimique et législation pharmaceutique	CRISTAU
Pharmacie galénique et matière médicale	BERNARD P.
Pharmacologie pharmaceutique	MERCIER J.
Physiologie	MORIN
Physiopathologie des voies respiratoires	LAVAL
Physique	DUBOULOZ
Physique médicale	ROUX
Thérapeutique	N. . .
Toxicologie	VIALA
Zoologie et microbiologie	GREBUS

Professeurs titulaires à titre personnel

MM.	BOURGEON René	Chirurgie.
	FARNARIER	Ophtalmologie.
	HOUEL	Chirurgie thoracique et chirurgie du cœur.
	IMBERT	Chirurgie générale.
	LAFFARGUE	Anatomie pathologique.
	ORSINI	Pédiatrie.
	PAYAN	Anatomie pathologique.
	SERAFINO	Chirurgie.
	SERMENT	Obstétrique et gynécologie.
	TAMALET	Microbiologie.
	TISSIÉ	Oto-Rhino-Laryngologie.

Professeurs sans Chaires

MM. DEPIEDS, DESANTI, GEVAUDAN, CORRIOL, BARET, JULLIEN, DALMAS.

Maîtres de conférences Agrégés

MM.	ACHARD	MM.	FRANÇOIS	MM.	MURATORE
	ARDISSON		FOURNIER		NICOLI
	ARNOUX A.		GARCIN		PLASSE
	BATTESTI		GASCARD		RAYBAUD C.
	BERNARD P.-M.		GAUTHIER		REYNAUD
	BIMAR		GAYTE-SORBIER		RICHAUD
	BOUYALA		GERARD		RICHELME
	BUISSON		GIRAUD F.		ROLLAND
	BUREAU		GHIGLIONE		SALAMON
	CARCASSONNE M.		GRIMAUD		SARACCO
	CLAUSTRE		GUERINEL		SARLES
	CODACCIONI		HUGUET		SEDAN
	CHEVROT		IMBERT Paul		SEITE
	COMBALBERT	Mme	JOUVE		SOULAYROL
	COURBIER	MM.	KAPHAN		SPITALIER
	CREVAT		LANZA Maurice		TARANGER
	DELMONT		LOUCHET		TATOSSIAN
	DOR		MONGIN		TOGA
	DUMON		MONTIES		VITRY
					ZWIRN

Agrégés en exercice

MM. BERARD
BREMOND
BRICOT
CARCASSONNE Y.
CASANOVA

MM. COIGNET
COMITI
GARES
JEAN
MICHOTEY

MM. MONGES André
REBOUD
RUF
SIMONIN
TEMINE
TRIFAUD

Agrégés libres

MM. BERTHIER
BOURRET
CHAUVIN

DEVIN
FIGARELLA
MM. GAMBARELLI

OLLIVIER
OURGAUD
PAOLI

Je dédie cet ouvrage

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PERES

A LA MEMOIRE DE MES COUSINES

A MON PERE

A MA MERE

En témoignage de l'immense reconnaissance que je leur dois.

A MES GRANDS-MERES

A MA FAMILLE

A MES AMIS.

Monsieur le Professeur A.-Maurice RECORDIER a bien voulu me confier le sujet de cette thèse. Elle est le résultat d'une série de recherches que j'ai entreprises sous sa direction à la Clinique Rhumatologique de Marseille.

Il m'a conseillé et aidé dans mon orientation et m'a accueilli avec une grande bienveillance dans son Service où il m'a permis de poursuivre ce travail avec une compréhension de tous les instants.

J'ai appris à son contact les nuances de la clinique journalière et la nécessité de l'esprit critique. J'ai particulièrement admiré son extrême bonté.

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon respectueux attachement.

Monsieur le Professeur Henri ROUX sait ma reconnaissance pour tous les conseils qu'il a voulu me prodiguer.

Qu'il trouve ici l'expression de ma respectueuse considération.

Monsieur le Professeur Serge LISSITZKY a bien voulu accepter d'apporter aux problèmes biochimiques de cette thèse sa grande expérience et son autorité.

Je lui en garde une extrême gratitude.

Monsieur le Préfesseur Agrégé Yves CARCASSONNE m'a prodigué sans réserves son enseignement pour lequel je lui garde une profonde reconnaissance.

J'ai été très sensible à la bienveillante amitié qu'il m'a toujours témoignée.

Monsieur le Docteur Georges SERRATRICE m'a inspiré le sujet de cette thèse. La valeur de son enseignement et l'intérêt permanent qu'il a manifesté pour mes travaux m'ont constamment encouragé. C'est avec son aide que j'ai pu définir et préciser la structure de cet ouvrage.

Je le remercie profondément et le prie de trouver ici l'expression de mon sincère dévouement.

Qu'il me soit permis de témoigner ma reconnaissance à mes Maîtres dans les Hôpitaux :

Monsieur le Docteur E. HAWTHORN

Monsieur le Professeur agrégé J. FIGARELLA

Monsieur le Docteur F. LUCCIONI

Monsieur le Professeur J. PIERI

M. le Professeur J. OLMER

Monsieur le Professeur A.-M. RECORDIER
dont j'ai eu l'honneur d'être l'Externe.

Monsieur le Professeur J. PIERI

Monsieur le Docteur E. HAWTHORN

Monsieur le Professeur agrégé A.-M. FOURNIER

Monsieur le Professeur A.-M. RECORDIER
dont j'ai eu l'honneur d'être l'Interne.

Monsieur le Doyen G. MORIN a bien voulu m'accueillir dans son Laboratoire et me permettre d'y travailler.

Je le prie d'accepter avec mes remerciements l'expression de mes sentiments très respectueux.

Mes Maîtres de Physiologie :

Monsieur le Professeur J. CORRIOL

Monsieur le Professeur agrégé P. ZWIRN

Monsieur le Professeur agrégé J.-L. ARDISSON

Monsieur le Professeur agrégé C. GRIMAUD

Monsieur le Docteur B. CONSTANTIN

m'ont toujours témoigné une extrême bienveillance dont je leur suis reconnaissant.

Je suis heureux de remercier

mes Conférenciers d'Externat :

Mademoiselle le Docteur L. STRIGIONI

Monsieur le Docteur R. CAMATTE.

mes Conférenciers d'Internat :

Monsieur le Docteur A. JOBIN

Mademoiselle le Docteur C. PERPERE

Monsieur le Docteur C. MERCIER

Monsieur le Docteur D. JOUVE.

Monsieur le Docteur B. LAURENT a contribué à ce travail et son aide amicale m'a été particulièrement utile. Qu'il soit assuré de toute ma reconnaissance.

Monsieur le Docteur GARRIGUES

Madame le Docteur RAGNONI

Mademoiselle OGIER-DENIS

Mesdames les Infirmières du Service du Professeur A.-M. RECORDIER

ont apporté à la réalisation de ce travail tous leurs soins et toute leur compétence. Qu'ils reçoivent mes plus vifs remerciements.

Je salue avec émotion la mémoire du Docteur A. MAC PHERSON (Londres), qui m'a accueilli avec une grande bienveillance dans son Laboratoire de Recherche.

J'ai eu l'honneur d'être accueilli dans le Service du Professeur S. DE SEZE. Qu'il me soit permis de remercier Messieurs les Docteurs D. HIOCO et P. BORDIER, Mesdames L. MIRAVET et M. GRUSON.

Je suis heureux de remercier également Monsieur le Professeur A. HULTH et Monsieur le Docteur H. SEMB (Malmö).

INTRODUCTION

Le dosage de l'hydroxyproline urinaire est désormais un examen de pratique courante. Son intérêt dans la maladie de Paget, dans l'hyperparathyroïdie et dans les cancers secondaires des os n'est plus à démontrer. Toutefois les rapports exacts de l'hydroxyprolinurie avec le métabolisme du collagène, les modifications de son taux au cours de nombreux processus pathologiques sont encore mal définis.

Le but de ce travail est de faire le point sur certaines données de la littérature concernant ces différents problèmes et d'apporter notre expérience personnelle. Celle-ci porte sur 300 malades environ, explorés à la Clinique Rhumatologique de notre Maître le Professeur A.-M. Recordier. Les dosages, au nombre de 500, ont été effectués dans le Service du Professeur Lissitzky.

Nous nous proposons d'étudier dans une première partie les données biochimiques concernant l'hydroxyproline. La deuxième partie est consacrée à l'hydroxyprolinurie chez le sujet normal et à ses variations physiologiques. La dernière partie concerne les modifications rencontrees en pathologie — particulièrement les affections de l'appareil locomoteur. Un essai de classification de ces modifications est enfin proposé.

*
* *

L'hydroxyproline est de connaissance ancienne. Fischer l'isole en 1902. Par la suite, elle est l'objet de nombreux travaux biochimiques, en particulier de synthèse (Leusch et Coll., 1905-1919). Ultérieurement, les rapports étroits de cet acide aminé avec le collagène entraînent une série de travaux biologiques, parmi lesquels ceux de Stetten et Schœnheimer (1944), Neuman et Logan (1950), puis ceux de Harkness (1954, 1961), Chvapil et Coll. (1958-1962), Mitoma et Coll. (1959-1960) et Kivirikko (1958-1965).

Le dosage de l'hydroxyproline libre dans les urines est peu utilisé, mais à la suite des travaux de Plaquet (1955) et de Ziff et Coll. (1956) qui démontrent que la presque totalité de l'hydroxyproline urinaire se trouve sous forme combinée, et ceux de Prockop et Udenfriend (1960) puis de Wœssner (1961) qui mettent au point une technique de dosage simple et précise, l'étude de l'élimination urinaire de cet acide aminé devient rapidement une technique de routine.

Ainsi, de nombreuses publications font état de modifications du taux d'hydroxyprolinurie au cours d'affections diverses, en particulier osseuses et endocriniennes (Klein et Coll., 1962-1966).

Récemment, les diverses étapes du métabolisme de l'hydroxyproline sont précisées par les recherches d'Adam et Goldstone (1961-1965).

Parmi les thèses consacrées à l'hydroxyproline, il importe de citer celles de Friberg (1957) et celles de Kivirikko (1963).

Nous citerons parmi les mises au point récentes sur l'hydroxyprolinurie celle, effectuée dans le Service du Professeur de Sèze, de Gruson et Coll. (1966), de Hioco et Coll. (1967), celle de Lejeune et Coll. (1966), et celle de Kocher (1966).

PREMIERE PARTIE

DONNÉES BIOLOGIQUES

Dans ce chapitre, nous étudierons tout d'abord quelques données biochimiques concernant l'hydroxyproline et le collagène. Nous laisserons volontairement de côté certains problèmes, comme celui des isomères (séparation, corrélations stéréochimiques) ; quant au métabolisme du collagène nous l'étudierons essentiellement dans ses rapports avec l'hydroxyproline.

Les diverses techniques d'identification et de dosage de l'hydroxyproline urinaire seront ensuite étudiées après un bref rappel sur l'élimination urinaire de cet aminoacide (terme souvent employé bien que l'hydroxyproline soit un acide iminé).

Enfin le problème de la signification de l'hydroxyprolinurie sera évoqué.

ABREVIATIONS UTILISÉES

pro : proline

hypro : hydroxyproline

hypropeptides : peptides contenant de l'hydroxyproline.

glu : acide glutamique

gly : glycocolle

ARN : acide ribonucléique

sARN acide ribonucléique soluble (de transfert)

ATP : adénosine-triphosphate

PC : acide delta-1-pyrroline-5-carboxylique

HPC : acide delta-1-pyrroline-3-hydroxy-5-carboxylique

HKG : acide alpha-céto-gamma-hydroxy-glutarique

HGA : acide alpha-hydroxyglutamique

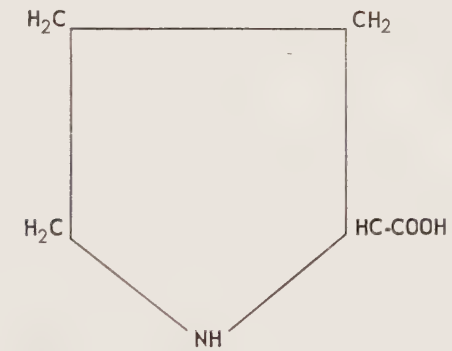
PM : poids moléculaire.

L'HYDROXYPROLINE

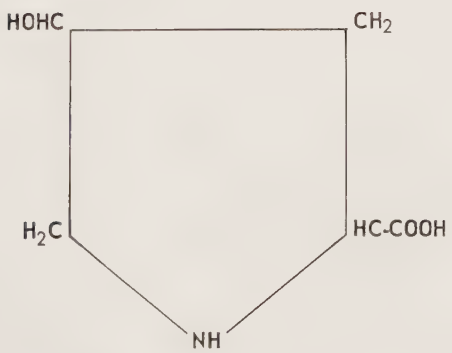
En 1902, Fischer isole, à partir d'un hydrolysat de gélatine, un acide aminé nouveau auquel il donne le nom d'acide oxypyrrolidine alpha-carboxylique. Trois années plus tard, Fischer et Suzuki donnent à l'acide pyrrolidine alpha-carboxylique le nom de proline, et ce nouvel acide aminé devient l'hydroxyproline.

La position du groupe hydroxyl est déterminée par Leuchs (1905) qui poursuit ses travaux sur la synthèse et les isomères de l'hydroxyproline avec Brewster (1913) et Bormann (1919). Kaneko, en 1940, estime que les radicaux carboxyl et hydroxyl sont sur les côtés opposés de la molécule (Tableau I).

TABLEAU I

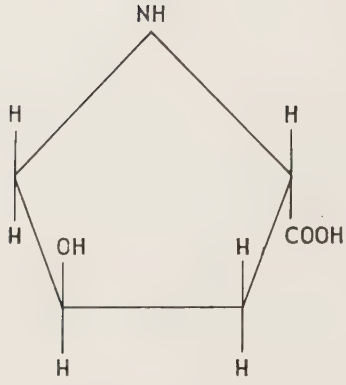


PROLINE

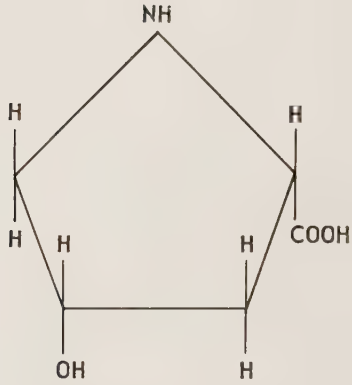


HYDROXYPROLINE

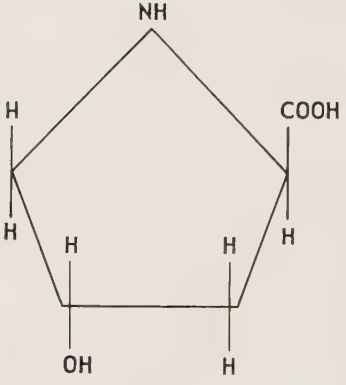
TABLEAU II



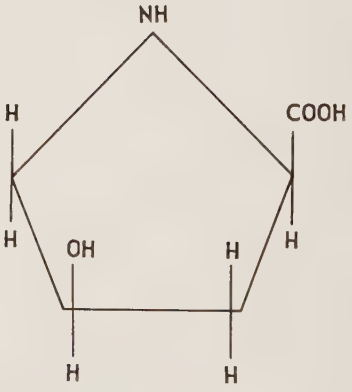
L-HYDROXYPROLINE



L-ALLOHYDROXYPROLINE



D-HYDROXYPROLINE



D-ALLOHYDROXYPROLINE

Le tableau II représente les différents isomères.

L'hydroxyproline, ou acide 4-hydroxy 2-pyrrolidine carboxylique (abréviation : hypro) a un poids moléculaire de 131,14.

Sa formule est $C_5H_9O_3N$ (C 45, 80 % ; H 6, 92 % ; O 36, 60 % ; N 10, 68 %).

Ne possédant pas de groupe alpha aminé primaire (il n'y a pas de libération d'azote sous l'action de l'acide nitreux), c'est un imino-acide, de saveur sucrée.

Très soluble dans l'eau, beaucoup moins soluble dans l'éthanol que la proline, sa solubilité dans l'eau à 25° C est de 36,11 g par 100 g.

L'hypochlorite l'oxyde en hydroxypyrroline. Elle est décarboxylée par la ninhydrine avec apparition d'une couleur rougeâtre au-dessous de pH 4,4 et jaunâtre au-dessus. Elle forme un produit de condensation bleu clair avec l'isatine, rouge avec le naphtoquinone-4-sulfonate, carmin avec la ninhydrine-cyclohexamine.

METABOLISME

Le métabolisme de l'hydroxyproline est l'objet de nombreux travaux, parmi lesquels il importe de citer ceux de Stetten (1949), de Taggart et Krakaur (1949) et d'Adams et Goldstone (1960, 1962, 1964).

Formation :

L'hydroxyproline provient de l'oxydation de la proline. Des expériences à l'aide de proline marquée avec du N^{15} et du deuterium révèlent qu'en 3 jours, un quart de l'hydroxyproline de l'organisme se renouvelle aux dépens de la proline ingérée.

Par ailleurs, la proline est synthétisée à partir de l'acide glutamique (Tableau III a), elle est également dégradée en acide glutamique (Tableau III b). L'étape principale de ces réactions est l'acide delta-1-pyrroline-5-carboxylique (PC).

TABLEAU III **a**

ACIDE L-GLUTAMIQUE

|

ACIDE DELTA-1-PYRROLINE-5-CARBOXYLIQUE

| Acide delta-1-pyrroline-5-carboxylique réductase

L PROLINE

|

L HYDROXYPROLINE

---

b

L PROLINE

| Proline oxydase

ACIDE DELTA-1-PYRROLINE-5-CARBOXYLIQUE

|

ACIDE GLUTAMIQUE GAMMA SEMI-ALDEHYDE

| Acide delta-1-pyrroline-5-carboxylique déshydrogénase

ACIDE L GLUTAMIQUE

|

CYCLE DE L'UREE et CYCLE DE KREBS

Synthèse et dégradation de la proline

L'hypothèse de l'hydroxylation du PC est parfois avancée dans la synthèse de l'hydroxyproline au cours de la formation du collagène. Le problème est en fait complexe, il est étudié plus loin.

En 1964, Goldstone et Adams mettent en évidence une biosynthèse de l'hydroxyproline à partir de l'acide glyoxylique et de l'acide pyruvique (Tableau IV a).

Dégradation :

La proline et l'hydroxyproline sont des acides aminés glucoformateurs. C'est par l'intermédiaire de l'acide glutamique que s'explique le passage au glycogène.

L'hydroxyproline donne dans le foie et le rein de l'acide glutamique. Il était admis que l'hydroxyproline se transformait en proline et celle-ci était dégradée en acide glutamique et en autres composés du cycle de l'urée et du cycle de Krebs.

En fait, les récents travaux d'Adams et Goldstone (1964) mettent en évidence l'oxydation de l'hydroxyproline en acide delta-1-pyrroline-3-hydroxy-5-carboxylique (HPC). L'identification de ce produit d'oxydation est basée sur la formation d'un dérivé (2-4 dinitrophenyl osazone) et sur la transformation analogue de la proline en PC.

Cette dégradation (Tableau IV b) est étudiée chez l'animal par Goldstone et Adams et les mêmes réactions ont été observées dans le foie et le rein humain incubés (Efron, 1966).

Diverses études à l'aide d'acides aminés marqués révèlent que chez l'animal :

— l'ornithine donne de l'arginine, de l'acide glutamique et de la proline (Clutton, 1940 - Roloff, 1940).

TABLEAU IV **a**

ACIDE GLYOXYLIQUE + ACIDE PYRUVIQUE

|

ACIDE ALPHA CETO GAMMA HYDROXY GLUTARIQUE (HKG)

| Transaminase

ACIDE ALPHA HYDROXYGLUTAMIQUE (HGA)

| Enzyme

INTERMEDIAIRE

| Enzyme

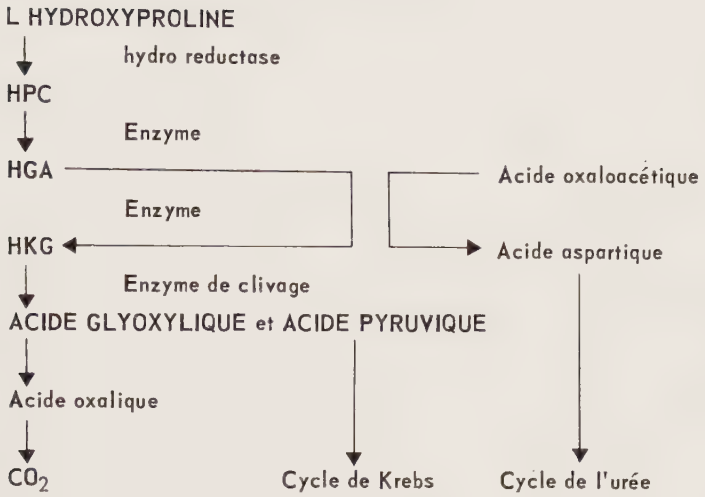
DELTA PYRROLINE - 3 - HYDROXY - 5 - CARBOXYLIQUE (HPC)

| HPC réductase

L HYDROXYPROLINE

Synthèse de l'hydroxyproline

TABLEAU IV b



Degradation de l'hydroxyproline

— La proline donne de l'hydroxyproline, de l'ornithine et de l'acide glutamique (Stetten, 1944),

— L'hydroxyproline donne de l'alanine et de l'acide glutamique (Wolf et Berger, 1958). Les différents métabolites retrouvés par ces derniers auteurs sont l'acide pyrrole-2-carboxylique et l'*urée* (dans les urines) et le CO_2 expiré.

DONNEES BIOCHIMIQUES SUR L'HYDROXYPROLINE ET LE COLLAGENE

Classiquement l'hydroxyproline ne se trouve que dans les tissus animaux. En fait, on la retrouve dans certaines plantes (Steward et Pollard, 1958), certains microorganismes (Roy, 1955) et certains antibiotiques. La forme allo est extraite des feuilles du Santalum album par Radhakrishnan (1954), et une 3-hydroxyproline est isolée par Ogle (1965) dans le tendon d'Achille de bétail.

L'hydroxyproline n'est apparemment présente dans aucune autre protéine que le collagène, excepté l'élastine qui en contient 1,5 à 2,3 % (Neuman et Logan, 1950). Le contenu en hydroxyproline du collagène des mammifères est relativement constant : 13 à 14 %. (Proline et hydroxyproline formant 1/3 de la molécule de collagène). Le contenu des tissus en hydroxyproline dépend probablement de leur richesse en collagène. Ainsi, de nombreux travaux ont été effectués sur le contenu en collagène de divers organes (Roberts, 1951 - Harkness, 1952 - Bowes, 1953 - Aterman, 1954). Par exemple Grant (1964) détermine la teneur en collagène et en élastine des artères. La teneur en collagène est égale au pourcentage d'hypro multiplié par 7,4 (Neuman, 1950) et celui de l'élastine au pourcentage d'hydroxyproline multiplié par un facteur qui pour l'aorte humaine est de 70 à 88.

La fonction de l'hydroxyproline est sans doute de stabiliser le collagène (Gustavson, 1955). Burton (1955) suggère que les résidus d'hydroxyproline aident à la cohésion des fibrilles du collagène.

LE COLLAGENE.

Le collagène est la principale protéine fibreuse du tissu conjonctif, la plus abondante protéine du corps. Les fibres de collagène sont constituées par un assemblage d'acides aminés en chaînes polypeptidiques. Il est riche en acides aminés aliphatiques à chaîne courte (glycocolle, alanine), pauvre en acides aminés aliphatiques à chaîne longue (leucine, isoleucine) et en acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine). Il contient une forte proportion d'hydroxyproline et d'hydroxylysine, deux acides animés que ne renferment aucune autre protéine, sauf l'élastine. Il est dépourvu de cystine, glucosamine et galactosamine.

Le collagène est très hydrophile car il renferme de nombreux groupes hydroxyl et peu de groupes lipophiles. Le nombre d'unités imino-acides (proline et hydroxyproline) est élevé. Dans la dentine, très proche du collagène de l'os, il y a environ 215 résidus de ce type

pour 1.000. Ceux-ci présentent des groupes pyrrolidines planaires volumineux et rigides qui tendent à restreindre les mouvements de la chaîne polypeptidique et l'empêchent d'être arrangée en structure ordonnée, stabilisée par des ponts d'hydrogène. Cet effet est compensée par le grand nombre de résidus glycine (320 pour 1.000 dans le collagène de la dentine) qui sont plus petits et laissent la place pour certaines chaînes latérales les plus volumineuses.

Pour Rich et Crick (1961) les chaînes polypeptidiques individuelles sont disposées selon une hélice gauche. Par groupe de trois, ces spires sont enroulées les unes autour des autres en une spire droite dont le pas est plus long que celui des précédentes. Le résultat est une corde à trois brins, renforcée par des ponts d'hydrogène internes entre les résidus d'acides aminés. Les groupes hydroxyles des cycles pyrrolidine de l'hydroxyproline peuvent participer à la formation des ponts d'hydrogène.

Les macromolécules synthétisées à l'intérieur des fibroblastes passent dans le milieu extracellulaire où elles se combinent en donnant des fibres collagènes. L'évolution métabolique du collagène peut être appréciée à partir de ses diverses fractions : lorsque le tissu conjonctif est extrait à l'aide de divers acides organiques ou de solutions salines, les molécules de collagène sont dissoutes en divers éléments, variables avec la solution employée. On peut, par exemple, distinguer un collagène alcalino-soluble (et soluble dans l'eau), un « procollagène » citrate-soluble et un collagène insoluble, ou bien un collagène microsomal, un collagène soluble dans les solutions salines diluées puis concentrées, puis dans les acides organiques et un collagène insoluble (Tableau V). Pour Lapière (1965) le collagène nouvellement synthétisé dans les fibroblastes, à partir du pool des acides aminés libres, est d'abord insoluble dans une sous-fraction (I_1) liée aux éléments intracellulaires. Ce collagène quitte la cellule, rejoint le milieu extracellulaire d'où il est extrait à pH neutre dans une sous-fraction (N_1). Il suit alors une voie courte où il est rapidement dégradé, ou une voie longue (où il est incorporé à des fractions plus stables, la sous-fraction insoluble I_2, la fraction

TABLEAU V

MICROSOMES

|

TROPOCOLLAGENE

| (PM : 360 000 . 14 × 2 800 angströms). 3 chaînes polypeptidiques hélicoïdales, synthétisées dans les fibroblastes. *Soluble dans les solutions salines diluées* 0,14 NaCl

Aggrégation des molécules

| ———— *Soluble dans les solutions salines concentrées*

| ———— *Soluble dans les acides organiques*

COLLAGENE INSOLUBLE

acide, la seconde sous-fraction de l'extrait neutre N_2) aux dépens de laquelle il est également dégradé. Les produits de dégradation de ces deux voies métaboliques sont soit réutilisés dans la synthèse des protéines (proline), soit éliminés (hydroxyproline). La signification biologique de la fraction neutre est intimement liée aux phénomènes de renouvellement en relation avec l'anabolisme mais aussi le catabolisme. La signification biologique de la fraction acide est moins connue, sa proportion augmente lorsque le renouvellement des éléments structuraux les plus stables augmente. La fraction insoluble représente la masse des fibres. Une sous-fraction métabolique est très proche de la fraction acide.

Formation du collagène.

Nous ne pouvons aborder cette étude dans son ensemble, et nous exposerons simplement le problème de l'hydroxylation de la proline.

Les étapes successives de la synthèse protéique — qui se fait à partir des acides aminés libres intracellulaires — sont les suivantes :

— activation des acides aminés, réalisée par l'ATP en présence d'un enzyme d'activation spécifique ;
— transfert de l'acide activé par l'ARN soluble, ou ARN de transfert, catalysé également par l'enzyme d'activation ;
— transfert sur les ribosomes du complexe acide aminé-sARN ;
— synthèse et libération de la chaîne protéique.

1°) *D'où provient l'hydroxyproline du collagène ?*

Les deux hydroxyacides du collagène, l'hydroxyproline et l'hydroxylysine ne dérivent pas de l'hydroxyproline et de l'hydroxylysine libres, mais de la proline et de la lysine qui sont hydroxylées pendant la synthèse du collagène. Ceci est mis en évidence par les travaux de Stetten et de Schœnheimer (1944), Smith et Jackson (1957), Wolf et Berger (1958), Sinex et Van Slyke (1958) et Green et Lowther (1959). Pour Mitoma (1959), il existe une faible incorporation de l'hydroxyproline libre dans le collagène de l'embryon de poulet, mais cette notion est infirmée par Prockop (1962) qui estime que l'hydroxyproline libre n'est pas une source appréciable de l'hydroxyproline du collagène.

Inversement, l'hydroxyproline libre peut se former par dégradation de fractions protéiques, mais une faible quantité peut être synthétisée à partir de la proline (Wolf et Berger, 1958).

Il se produit donc une hydroxylation de la proline, par addition d'oxygène moléculaire (Fujimoto, 1962 - Prockop et Coll., 1962). La vitamine C semble nécessaire pour Robertson et Coll. (1959) et pour Martin et Coll. (1961), alors que pour Mitoma (1959) dans le scorbut, l'incorporation diminue, mais que l'hydroxylation ne semble pas modifiée.

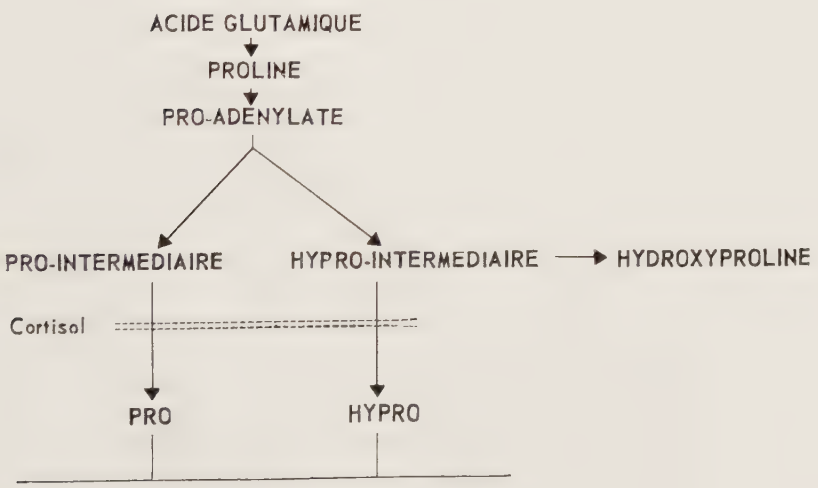
2°) *A quel stade de la synthèse protéique survient l'hydroxylation ?*

Pour Hausmann et Neuman (1961) c'est une forme liée de la proline qui est hydroxylée et incorporée dans le collagène. Ce com-

posé est soit un produit contenant de la proline pour la formation de la proline du collagène ou de la proline pour la formation de l'hydroxyproline du collagène (par exemple, prolyl-adenylate ou prolyl-sARN), soit un composé contenant les deux (par exemple une molécule précollagénique ou un peptide de tropocollagène avec un excès de proline et manquant d'hydroxyproline). Cette hypothèse est soutenue par Levine (1962). Daughaday et Mariz (1962) estiment que l'hydroxyproline libre ne dérive pas du collagène soluble, mais d'un intermédiaire contenant de l'hydroxyproline activée qui existe avant le stade de synthèse peptidique. La formation de cet intermédiaire n'est pas inhibée par le cortisol (qui inhibe la formation du collagène) (Tableau VI). Pour Manner et Gould (1963) les prolyl-sARN sont les substrats de l'hydroxylation donnant les hydroxyprolyl-sARN. Cette théorie de l'hydroxylation *avant* l'incorporation semble d'ailleurs démontrée dans l'actinomycine, par Katz et Coll. (1965).

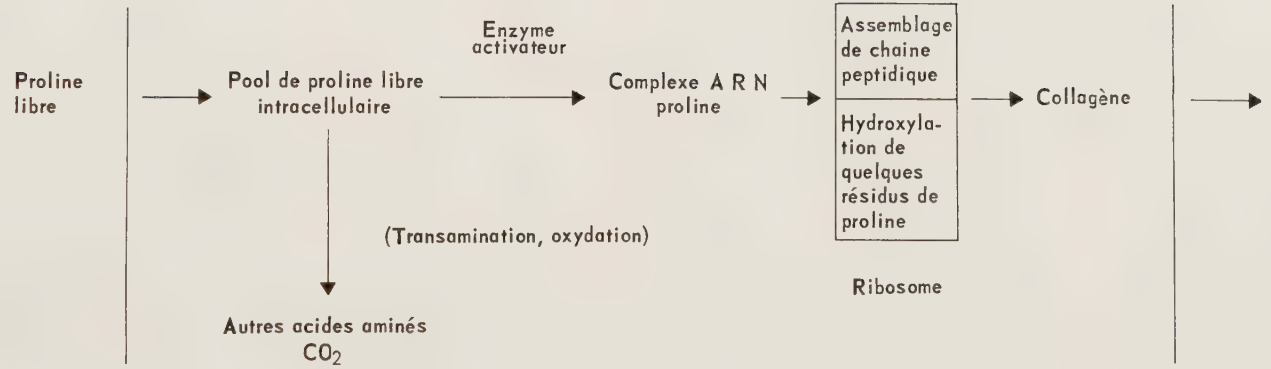
Cependant l'incubation de microsomes avec de la proline marquée au C^{14} donne une protéine microsomale, pauvre en hydroxyproline. Lors d'une incubation prolongée avec de l'oxygène, ce peptide contient alors de la proline et de l'hydroxyproline. Cette protéine microsomale pauvre en hydroxyproline est un polypeptide précuseur du collagène dont la proline est hydroxylée par une proline oxydase (Gottlieb, 1965). Ainsi la proline est incorporée dans une chaîne polypeptidique destinée à devenir du collagène, placée dans des positions spécifiques, puis hydroxylée, donnant l'hydroxyproline. Cette théorie déjà soutenue par Peterkofsky et Udenfriend (1962) semble actuellement démontrée par Lukens (1965).

TABLEAU VI



Théorie de l'hydroxylation de la proline avant l'incorporation

TABLEAU VII



D'après W.A. PECK et T.R. DIRKSEN

Dégradation du collagène.

Pour Jackson (1957) ce catabolisme débute par la conversion du collagène fibreux en collagène soluble. Wœssner (1962) met en évidence dans l'utérus en involution, une augmentation du collagène soluble et de l'hydroxyproline libre, alors que le taux d'hydroxyproline liée aux peptides est peu modifié. Le mécanisme serait fait d'un double phénomène où dans une première étape le collagène serait dénaturé en gélatine, et, dans une seconde, celle-ci dégradée par les cathepsines cellulaires.

En fait, le catabolisme du collagène est mal connu. Il n'y a que quelques années le seul enzyme spécifique reconnu capable de dégrader le collagène à l'état natif, dans des conditions physiologiques de pH et de température, était une collagénase isolée des cultures de certaines souches de bactéries (Mandl, 1961). Par ailleurs, le collagène natif n'est pas dégradé par les protéases cellulaires banales et n'est pas sensible à l'action des enzymes protéolytiques digestifs. La théorie de Wœssner est énoncée à la suite des échecs rencontrés dans la recherche d'une collagénase vraie.

Pour Lapière (1965) la rapidité et la sélectivité des remaniements tissulaires incitent à penser qu'un système enzymatique spécifique, dont l'activité est localisée à l'endroit de sa production, doit intervenir pour les réaliser. L'auteur met en évidence, dans divers organes de vertébrés, un enzyme collagénolytique qui ne révèle sa présence qu'en culture de tissus in vitro. Ce système, produit uniquement par les tissus vivants, est diffusible et opère une dégradation du collagène jusqu'au stade des peptides dialysables.

Etude dynamique.

Le collagène du corps ne peut être considéré comme un simple pool homogène, car il existe de nombreuses variétés de collagène avec des vitesses de renouvellement différentes. Ainsi, pour Gerber et Coll. (1960) cette vitesse pour le collagène de tendon est supérieure à 110 jours ; dans le muscle, elle est de 50 jours ; dans la peau, 60 jours. Dans l'os il existe plusieurs composants métaboliquement distincts, dont un avec une vitesse très rapide (4 jours).

En ce qui concerne l'hydroxyproline, il existe, contrairement à ce que pense Stetten (1949) un pool défini d'hydroxyproline libre, distinct du pool de proline (Wolf et Berger, 1958 - Robertson, 1959). Lindstedt (1961) distingue trois pools d'hydroxyproline, de demi-vie 1 jour, 5 jours et 50 à 100 jours. Les deux premiers représentent des pools d'hydroxyproline du collagène soluble et le troisième sans doute du collagène insoluble. Chez les animaux âgés, les pools à demi-vie courte sont moins mis en évidence (ils sont plus grands chez le jeune pour Prockop et Coll., 1962) et la plupart de l'hydroxyproline est excrétée avec une demi-vie de 300 jours.

ETUDE PHYSIOLOGIQUE

L'hydroxyproline est un acide aminé non indispensable, qui se trouve essentiellement dans la viande, le poisson, la gélatine. Administrée à fortes doses chez l'animal, elle peut être toxique (Winitz, 1962).

Le problème de l'*absorption intestinale* ne nous retiendra pas : les acides aminés libérés au cours de la digestion des protéines passent la barrière intestinale par un processus actif. Les mécanismes de transport sont mal connus. Par ailleurs, seule une minime partie des peptides est absorbée pendant la digestion (Crane et Neuberger, 1960). Certains détails concernant l'hydroxyproline alimentaire sont étudiés plus loin.

L'étude de l'*élimination urinaire* comporte un rappel de nos connaissances sur la filtration glomérulaire et la réabsorption tubulaire, puis sur les hypropeptides urinaires.

I - ELIMINATION URINAIRE DE L'HYDROXYPROLINE

On trouve dans le sérum humain un faible taux d'hydroxyproline (0,6 à 0,7 mg/100 ml - Keiser, 1963) constitué principalement par la forme libre de l'acide aminé (Kivirikko, 1964 - Oye, 1962). Par contre dans les urines, l'hydroxyproline urinaire n'existe pratiquement que sous forme « liée ».

La concentration du filtrat glomérulaire en acides aminés est identique à celle du plasma, par ailleurs les acides aminés sont réabsorbés au niveau du tube proximal. D'une façon générale cette réabsorption est pratiquement complète pendant le jeûne. Lors d'injection d'acides aminés, la réabsorption et l'excrétion augmentent de façon variable (on peut distinguer des acides aminés à clearance basse — comme la proline — et à clearance élevée — comme la glycine). Cette réabsorption est sélective et dans une certaine mesure les acides aminés entrent en compétition les uns avec les autres.

L'hydroxyproline est presque entièrement réabsorbée dans le tubule rénal puis subit d'autres processus métaboliques aboutissant à la formation d'urée, de NH_3 et de CO_2 (Radhakrishnan, 1957 - Wolf, 1958 - Adams, 1960 - Gerber, 1960), car contrairement à presque tous les acides aminés l'hydroxyproline n'est pas utilisable pour la synthèse protéique (Stetten, 1944 - Green, 1959 - Mitoma, 1957, 1959 et Stone, 1962). Les hypropeptides, par contre, ne sont pas réabsorbés au cours de leur passage dans le rein, et se retrouvent presque inté-

gralement dans l'urine. Pour Prockop, 5 à 10 % de l'hydroxyproline provenant de la dégradation du collagène se retrouve dans l'urine sous forme d'hypropeptides et d'hydroxyproline libre, le reste étant catabolisé en CO_2, NH_3 et urée.

Scriver (1964) apporte quelques précisions sur la réabsorption tubulaire de l'hydroxyproline : dans l'hyperprolinémie familiale, il existe une hyperexcrétion de proline, glycine et hydroxyproline. Il existe donc vraisemblablement un mécanisme de transport sélectif pour les trois acides aminés. Dans l'hyperprolinémie, la prolinurie apparaît lorsque la concentration plasmatique dépasse 0,8 µ M/ml (le taux normal est inférieur à 0,3) et à ce moment l'excrétion de glycine et d'hydroxyproline augmente (alors que leur concentration plasmatique est normale) il y a donc compétition entre proline, glycine et hydroxyproline au niveau du transport commun dans le tubule. Cette hyperaminoacidurie pathologique se retrouve après perfusion de proline chez le sujet normal, l'absorption tubulaire étant inhibée par de fortes concentrations de proline. Lors de perfusion d'hydroxyproline, l'excrétion de glycine et de proline augmente également, mais dans des proportions moindres.

2 - LES HYPROPEPTIDES URINAIRES

En 1920, Dakin identifie un anhydride d'hydroxyproline et de proline dans la gélatine, puis Gordon (1943) isole un dipeptide prolyl-hydroxyproline (pro-hypro) dans un hydrolysat partiel de gélatine. En 1955, Kroner isole un tripeptide dans un hydrolysat partiel de collagène et cet oligopeptide est retrouvé dans les urines par Plaquet (1955). Identifié comme un « gly-(pro, hypro) » ce peptide urinaire constitue un résidu de collagène comme le suggère Westall (1955), et il se retrouve en grandes quantités dans les urines du nourrisson rachitique avec une alimentation exclusivement lactée.

De nombreux travaux sont alors consacrés aux hypropeptides et Meilman (1961, 1965) en isole et identifie plusieurs :

— Dicetopiperazine de pro-hypro,

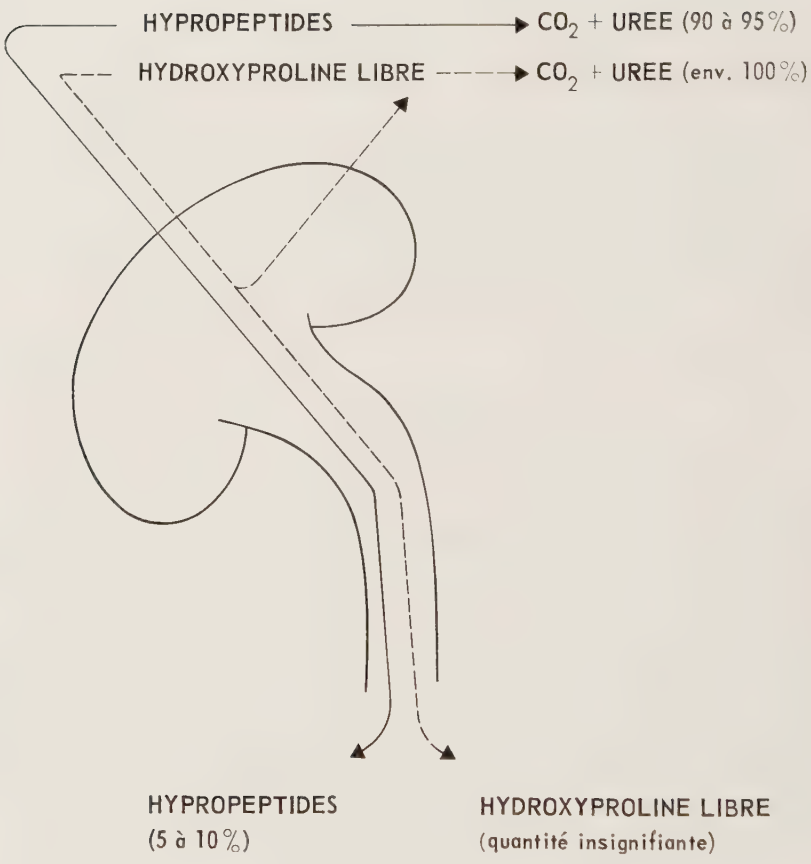
— glu-(hypro, glu),

— pro-hypro,

— gly-pro-hypro.

Puis Satwekar et Coll. (1964) distinguent deux fraction séparables par chromatographie, Bourillon (1966) obtient deux glycopeptides purifiés contenant de l'hydroxyproline et Cherian (1966) en isole un. Enfin, Borel (1967) sépare les hypropeptides acides et alcalins.

TABLEAU VIII



LE DOSAGE DE L'HYDROXYPROLINE URINAIRE

Nous étudierons tout d'abord les précautions à prendre à l'occasion d'un dosage (régime, récolte des urines), puis les méthodes proposées.

I - REGIME ALIMENTAIRE

La plupart des auteurs qui étudient l'hydroxyprolinurie soumettent leurs sujets à un régime pauvre en collagène, en supprimant la viande, le poisson et la gélatine. Un tel régime, proposé par Ziff (1956) contient moins de 100 mg d'hydroxyproline.

Kocher (1966) propose un régime pauvre en collagène, contenant une quantité fixe de calcium, permettant le dosage simultané de l'hydroxyproline et du calcium urinaires, régime suivi pendant 4 jours et débutant 24 heures au moins avant le début de la récolte des urines.

Petit déjeuner :

		Ca	P
Pain mi-blanc	100 g	22 mg	96 mg
Beurre	20 g	3 mg	3 mg
Confiture	30 g	4 mg	4 mg

Midi :

		Ca	P
Viande (bœuf, veau)	100 g	10 mg	180 mg
Tomates fraîches	100 g	11 mg	27 mg
ou concombres	100 g	10 mg	21 mg
ou asperges en boîtes	100 g	20 mg	34 mg
ou salade (pommée)	50 g	11 mg	13 mg
Pommes de terre	150 g	21 mg	78 mg
Pommes	150 g	9 mg	15 mg
ou bananes	100 g	8 mg	28 mg
ou melon	150 g	10 mg	18 mg
ou pêches fraîches	100 g	8 mg	22 mg
ou abricots en boîte	100 g	10 mg	15 mg

Soir :

Œuf	1 p	27 mg	105 mg
Pâtes	100 g	24 mg	156 mg

Fruits : comme au repas de midi.

Le poids des aliments s'entend pour les aliments non cuits. On peut cuire à l'huile ou à la graisse végétale. Boissons autorisées : café noir, thé (sucrés à volonté). A exclure : lait, bière, vins, eaux minérales.

Condiments autorisés : sel, poivre, épices. A exclure : fromage râpé, extraits de viande, gélatine.

Ce régime comprend approximativement :
1.500 calories,
150 mg de calcium,
700 mg de phosphore,
50 mg de protéines,
2 g de collagène
(soit 250 mg d'hydroxyproline).

2 - RECOLTE DES URINES

Les urines sont récoltées soigneusement, par périodes de 24 heures (de 8 h. à 8 h. le lendemain matin). Si possible le flacon collecteur est entreposé au frais (à + 4° C) entre chaque miction. Sinon les urines sont collectées sous toluène. A la fin de la récolte, on prélève, après avoir rendu le mélange homogène, un échantillon de 50 cc maintenu au frigidaire jusqu'au moment du dosage.

3 - LES METHODES DE DOSAGE

Il est impossible de détailler et même de citer toutes les méthodes proposées. Toutefois, on peut distinguer dans les méthodes de dosage de l'hydroxyproline totale :

— les dosages non spécifiques, avec les techniques de coloration par la ninhydrine (utilisée par Troll et Cannan, 1953), par une solution de vanilline (Curzon et Giltrow, 1953), par l'isatine (cette dernière méthode proposée par Jepson et Smith, 1953, semble spécifique et très sensible si on utilise également le réactif d'Erlich). Le problème de la séparation chromatographique pouvant être résolu par la méthode de Boulanger (1952) ou de Moore et Stein (1951, 1954) par exemple. Il existe cependant des difficultés d'identification, ainsi Ogle (1961) signale que le comportement de la bêtahydroxyproline est identique à celui de la gammahydroxyproline sur le chromatogramme, dans tous les systèmes de solvants testés.

— Les dosages spécifiques s'effectuent essentiellement par oxydation ménagée en pyrrole, méthode proposée par Lang en 1933, qui utilise l'hypochlorite de soude, le pyrrole formé pouvant être apprécié d'après la couleur formée avec l'isatine. Depuis, de nombreuses techniques ont été proposées (Waldschmidt-Leitz et Akabori, 1934 - Mac Farlane et Guest, 1939). Neuman et Logan (1950) proposent une méthode colorimétrique simple, remplaçant l'hypochlorite par l'eau oxygénée (utilisée également par Filliat, 1966). Des modifications ont été apportées, essayant d'éliminer les variations résultant d'une destruction incomplète de l'eau oxygénée (Martin, 1950 - Lollar, 1958 - Bowes, 1959 - Leach, 1960), l'instabilité du chromo-

gène développé (Baker, 1953 - Miyada, 1956 - Hutterer, 1960) et la production de chromogènes interférant à partir de la tyrosine et d'autres substances (Fels, 1958). En 1958, Stegeman propose la chloramine T comme oxydant et Wœssner (1961), reprenant une partie des travaux de ce dernier, établit une méthode dont la simplicité et la précision rejoignent celles de la technique de Prockop et Udenfriend exposée un an plus tôt.

Depuis, diverses méthodes ont été publiées parmi lesquelles nous citerons celle de Bergman et Loxley (1961) modifiée par Kœvœt (1965), celle de Grant (1964) qui utilise l'autoanalyseur Technicon, la micro-détermination de Tanzer et Gross (1964), celle de Stalder (1965) et de Firschein (1966).

Il faut signaler par ailleurs la méthode enzymatique de Rosano (1966) qui peut détecter 0,5 ug/0,1 ml d'urine, et celle de Borel (1967) qui effectue la séparation de l'hydroxyproline libre et des hypropeptides acides et alcalins par chromatographie sur résine Dowex 1. Cette dernière méthode et celle de Meilman (1961) qui permettent de fractionner les hypropeptides, semblent extrêmement intéressantes.

4 - METHODE DE PROCKOP ET UDENFRIEND (1960)

La technique utilisée dans le Service du Professeur Lissitzky (Hôpital de la Conception - Marseille) est celle proposée par Prockop et Udenfriend (1960).

Principe :

— Il existe une quantité extrêmement faible d'hydroxyproline libre dans les urines. Une *hydrolyse* permet d'obtenir l'hydroxyproline des peptides. Il s'agit d'un dosage de l'hydroxyprolinurie totale.

— Une *oxydation ménagée* par la chloramine T entraîne une déshydrogénation de l'hétérocycle avec apparition de 2 doubles liaisons. (Tableau IX).

— Une *décarboxylation* est obtenue au bain-marie à 100° C.

— Suivie de l'*extraction* du pyrrole obtenu dans le toluène,

— et d'une *coloration* avec le réactif d'Erlich (para-diméthylaminobenzaldehyde).

Réactifs utilisés :

1° Tampon borate
acide borique 31 g
KCl 112,5 g
Eau distillée 400 ml
le pH est ajusté à 8,7 avec KOH et le volume final porté à 500 ml.

2° Solution d'alanine
D.L. alanine 2 g
Eau distillée 18 ml
le pH est ajusté à 8,7 avec KOH et le volume final porté à 20 ml.
(Conserver au frigidaire).

3° Chloramine T
Chloramine T 0,56 g
méthylcellosolve 10 ml.
(Tiédir au bain-marie pour dissoudre la chloramine T).

4° Thiosulfate
Thiosulfate de Na 89,35 g
eau distillée qsp 100 ml.
(Tiédir pour dissoudre. Conserver sous toluène à la température de la pièce).

5° Paradiméthylaminobenzaldehyde

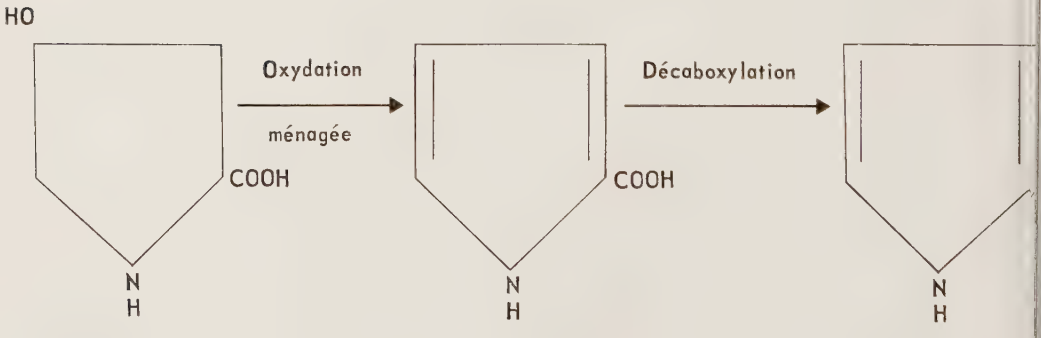
a) H_2SO_4 concentré 6,85 ml
alcool absolu 50 ml.
Le mélange est refroidi.

b) dans un autre becher
paradiméthylaminobenzaldehyde 30 g
alcool absolu 50 ml.
On mélange *a* et *b* lentement, la solution est stockée au frigidaire. Les cristaux qui précipitent sont redissous à chaud.

6° Résine-Charbon.
Résine échangeuse de cations AG 1 × 8 200-400 mesh sous forme Cl 20 g
Charbon novita 10 g.

Dans un gros tube à centrifuger, le mélange est lavé plusieurs fois avec HCl 6 N, puis sur buchner avec papier-filtre éthanol-éther.

TABLEAU IX



Hydroxyproline totale — Acide pyrrole 2 carboxylique — Pyrrole

Technique :

1° *Hydrolyse*

Dans un petit becher on place :

Urine	1 ml
Eau distillée	1 ml
HCl concentré	2 ml

Le mélange est injecté à l'aide d'une seringue dans une ampoule que l'on scelle à la flamme et que l'on porte à l'étuve à 124° pendant 3 heures.

2° *Précipitation des pigments et neutralisation.*

L'ampoule est vidée dans un tube à centrifuger et rincée avec 4 ml d'eau distillée ; le volume est donc porté à 8 ml. On ajoute avec une spatule environ 2 g du mélange résine-charbon. Agiter avec un agitateur de verre et laisser en contact quelques minutes.

Centrifuger 10 minutes à 2.000 t/m. Reprendre 4 ml de surnageant dans un tube à centrifuger bouchant à l'émeri. Ajouter une goutte de phénolphtaléine. Ajuster le pH jusqu'à une faible coloration rose en ajoutant d'abord environ 1 ml de potasse 10 N, puis 0,1 N goutte à goutte. Le tube est refroidi à la température de la pièce.

3° *Dosage :*

Le volume final est porté à 8 ml en ajoutant de l'eau distillée et la solution est saturée avec du chlorure de potassium cristallisé, en excès. Le pH est réajusté si nécessaire. On rajoute :

Tampon borate	2 ml
Solution alanine	1 ml
Chloramine T	2 ml

On laisse l'oxydation s'effectuer 20 minutes à la température de la pièce. L'oxydation est arrêtée par du thiosulfate 6 ml. Les 6 ml de thiosulfate sont mesurés auparavant dans des tubes à essais et versés rapidement. Si cela est nécessaire la solution est à nouveau saturée par KCI.

On fait une première extraction pour éliminer les corps solubles dans le toluène. On ajoute 10 ml de toluène. Agiter vigoureusement 100 fois. Centrifuger. Eliminer le toluène.

Il est parfois nécessaire de se servir d'un agitateur pour casser l'émulsion puis recentrifuger.

La phase aqueuse restant dans le tube à centrifuger est transvasée dans un gros tube à essai, lequel est porté au bain-marie bouillant pendant 30 minutes après avoir été bouché avec du coton cardé. Après refroidissement sous robinet d'eau froide, on transvase à nouveau le contenu du tube à essai dans le tube à centrifuger bouchant à l'émeri.

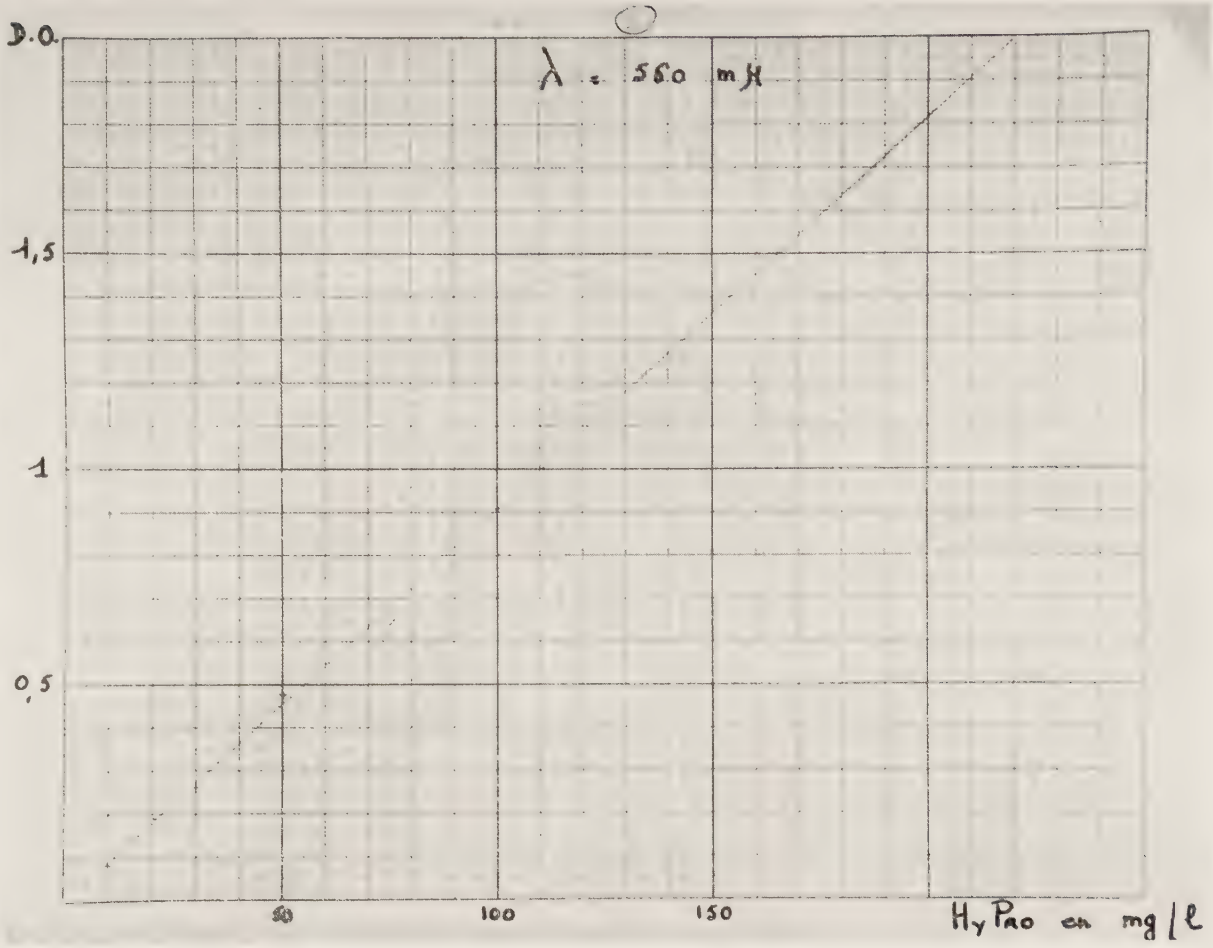
Deuxième extraction avec 10 ml de toluène. On agite vigoureusement 100 fois. On centrifuge.

Coloration : dans un tube à essai, reprendre 5 ml de toluène clair, ajouter 2 ml de réactif d'Erlich.

Lecture 15 minutes après à 560 μ.

On rapporte la densité optique à la courbe d'étalonnage. (Tableau X). Cette courbe est obtenue à partir d'une solution mère d'hydroxyproline (10 mg dans 20 ml d'eau distillée) dont on fait des dilutions.

Pour chaque série de dosage, on fait un contrôle avec une prise d'essai de la solution d'hydroxyproline (50 gamma).


D.O.
λ = 560 mμ
1,5
1
0,5
50
100
150
Hy Pao en mg/l

SIGNIFICATION DE L'HYDROXYPROLINURIE

Le collagène contenant presque toute l'hydroxyproline du corps, l'élimination urinaire peut provenir de l'hydroxyproline alimentaire, des précurseurs de synthèse ou des peptides relâchés lors de la dégradation de collagène.

L'hydroxyproline urinaire provient du collagène endogène.

— Le collagène et l'élastine contiennent de l'hydroxyproline, mais le collagène en contient 13 à 14 % et l'élastine — qui est beaucoup moins répandue dans l'organisme — en contient 2 %.

— Le rôle joué par les produits de la digestion d'aliments riches en collagène ou en son produit de dégradation la gélatine semble minime : une surcharge per os en gélatine augmente l'hydroxyproline libre et liée du sang et des urines (Prockop, 1962), mais pour augmenter nettement l'excrétion il faut ajouter à la ration au moins 20 à 30 g de gélatine. Enfin, un régime pauvre en gélatine ou même complètement dépourvu de protéines ne modifie pas l'excrétion de l'hydroxyproline.

— La synthèse d'hypropeptides urinaires par le rein ou un autre organe, à partir de pools circulant d'acides aminés est infirmée par l'absence d'augmentation du taux d'hypropeptides après administration d'hydroxyproline libre qui ne provoque qu'une augmentation de l'excrétion de la forme libre.

— Une autre source possible est la synthèse à partir de l'acide glyoxylique et de l'acide pyruvique. Elle semble négligeable (Efron, 1966). Enfin, rappelons qu'une faible partie de l'hydroxyproline libre provient de l'oxydation de la proline libre.

L'hydroxyproline provient donc du collagène endogène et pour sa plus grande partie du collagène osseux.

Le tissu osseux représente plus de la moitié du collagène de l'organisme et il apparaît comme métaboliquement plus actif que les autres fractions (Neuberger, 1953 - Gerber, 1960). Pour Klein (1964), le collagène osseux contribue pour 80 % environ de l'élimination de l'hydroxyproline chez le sujet normal. Il semble effectivement que les seules affections qui s'accompagnent fréquemment d'une hyperhydroxyprolinurie aient en commun une atteinte prédominante du squelette. Toutefois, le problème de l'hydroxyprolinurie ne peut se limiter au cadre des affections osseuses (problème des affections musculaires, des maladies du collagène...)

L'hydroxyprolinurie est le reflet du pool tissulaire de collagène soluble, métaboliquement actif.

— Ce collagène soluble, plus abondant chez le sujet jeune, proportionnel à l'intensité de la croissance, représente au maximum 1 % du collagène total. Il se comporte de façon très différente du collagène fibrillaire : son taux de renouvellement est comparable à celui des protéines sériques ou hépatiques (Harkness, 1954). Il est constitué de molécules jeunes récemment synthétisées, mais par ailleurs pour Jackson (1957), le collagène soluble est la seule forme de collagène pouvant être dégradée (la première étape de destruction des fibres est la dépolymérisation de celles-ci). Cette notion implique donc une formation accrue de collagène soluble aussi bien dans les processus anaboliques que cataboliques (une partie des hypropeptides urinaires provient du collagène insoluble).

Ainsi, chez l'enfant, l'excrétion d'hydroxyproline est plus élevée que celle de l'adulte, de même que le taux tissulaire de collagène soluble.

L'injection de substances lathyrogènes augmente le pool de collagène soluble et l'excrétion d'hydroxyproline.

Au cours de l'involution utérine du post-partum qui s'accompagne d'une légère augmentation de l'hydroxyprolinurie, il y a une augmentation du pool de collagène soluble dans le myomètre (Wœssner, 1959).

Après administration de proline marquée, Prockop trouve une évolution parallèle de la radioactivité des hypropeptiques urinaires et de la fraction soluble du collagène.

— Mais l'hydroxyproline urinaire provient-elle « surtout » des précurseurs de synthèse ou des peptides provenant de la dégradation ?

Pour Ziff (1956), l'hyperhydroxyprolinurie des enfants est due à une augmentation du pool des peptides libres pour la synthèse du collagène.

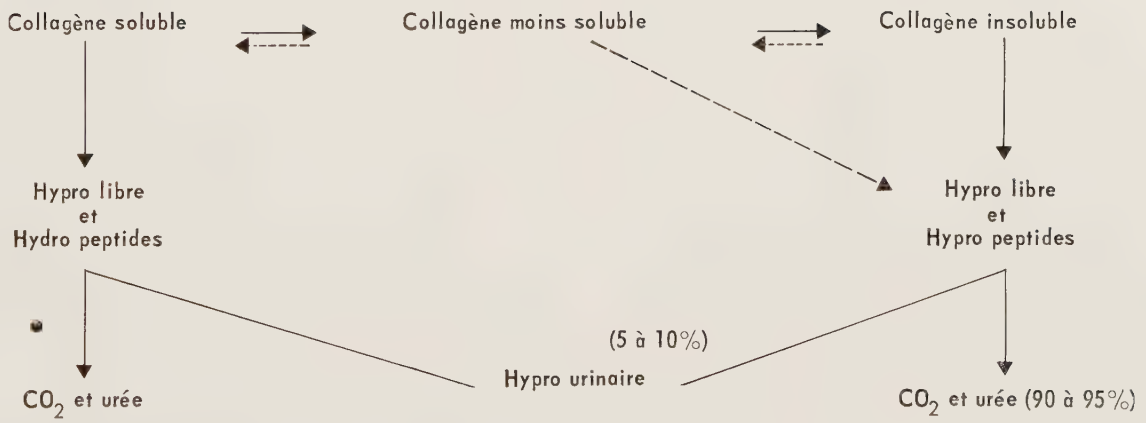
Pour Prockop (1961) l'hydroxyprolinurie provient essentiellement de la dégradation du collagène : le jeûne en hydroxyproline ou en protides ne change pas l'excrétion. Par ailleurs les corrélations avec le métabolisme osseux se font surtout avec l'ostéolyse.

Toutefois, il est difficile de conclure et on peut admettre que l'hydroxyprolinurie est le reflet du métabolisme du collagène soluble, augmenté lors de processus de synthèse ou de dégradation. Les états où les deux processus sont augmentés (croissance, Paget) se traduisent par une hyperhydroxyprolinurie, et l'on peut déjà avancer que les états où ces deux processus sont diminués se traduisent par une hypohydroxyprolinurie.

L'hydroxyproline urinaire provient donc de processus de synthèse et de dégradation du collagène ; les facteurs pouvant influencer cette excrétion sont :

— *Le degré de dégradation* (ou de synthèse) du collagène ; il semble nécessaire qu'il se produise des modifications métaboliques

TABLEAU XI


Collagène soluble
Collagène moins soluble
Collagène insoluble
Hypro libre
et
Hydro peptides
Hypro libre
et
Hypro peptides
(5 à 10%)
Hypro urinaire
CO_2 et urée
CO_2 et urée (90 à 95%)

importantes pour entraîner une élévation du taux d'hydroxyproline urinaire. L'excrétion de 20 à 40 mg par jour correspond à une destruction de 1,5 à 5 g de collagène (soit 1 p. 1.000 du collagène total).

— *Le degré de transformation* en CO_2 et urée. Pour Prockop, une partie seulement de l'hydroxyproline est transformée, car l'hydroxyproline ne suit par l'équilibre dynamique des autres acides aminés (Stetten).

— *Les variations de la clearance rénale :* pour Prockop il ne semble pas que ces variations soient importantes quand on détermine le taux d'hydroxyprolinurie. Il n'y a pas de variations diurnes, et hydratation ou déshydratation n'entraînent pas de modifications. Cependant il faut tenir compte d'une diminution de la clearance des hypropeptides lors d'insuffisances rénales glomérulaires.

DEUXIEME PARTIE

L'HYDROXYPROLINURIE CHEZ LE SUJET NORMAL

L'étude de l'élimination urinaire de l'hydroxyproline pose de nombreux problèmes. Chez le sujet normal, ces problèmes sont surtout techniques et les résultats obtenus sont très variables. Il faut tenir compte de la méthode employée, du régime suivi, d'affections ou de traitements antérieurs au dosage, enfin le contrôle de la diurèse doit être extrêmement précis. Il existe de plus des variations individuelles souvent importantes.

Il est vraisemblable que l'étude de l'hydroxyprolinémie permettra une exploration plus précise du métabolisme du collagène, mais pour l'instant les chiffres moyens du sujet normal sont extrêmement variables suivant les auteurs.

Quoi qu'il en soit, nous étudierons l'hydroxyprolinurie chez l'adulte normal et les variations suivant l'âge, le sexe et la nutrition.

I - ELIMINATION URINAIRE DE L'HYDROXYPROLINE CHEZ LE SUJET ADULTE

L'hydroxyprolinurie totale par 24 heures (1)

Le taux normal varie suivant les auteurs et la technique utilisée. Pour Sjœrdsma, Kibrick, Gruson, il est de 25 mg/24 heures. Toutefois, les 2/3 des auteurs consultés proposent un chiffre supérieur, en particulier Rubegni (31,5 mg) et Lejeune (32,2 mg).

Chez 22 sujets normaux (10 témoins et 12 sujets présentant une pathologie discrète — hypertension modérée par exemple —) nous trouvons un taux moyen de 27,5 mg/24 heures. Cette valeur est très proche de celles proposées par Klein (27,6 mg), Kivirikko (29,1 mg) et Borel (27,2 mg). Le taux est discrètement abaissé dans le groupe de « malades », mais la moyenne d'âge est supérieure à celle des témoins, de près de 10 ans.

La limite supérieure de la normale est de 35 mg par 24 heures pour Gruson. En fait, on peut admettre avec Kocher que l'hydroxyprolinurie de l'adulte normal ne dépasse par 40 mg par 24 heures (sauf, parfois, chez le sujet jeune). La limite inférieure de la normale semble plus difficile à déterminer. Nous estimons que chez le sujet sain âgé de plus de 20 ans et de moins de 70 ans, le taux d'hydroxyproline urinaire est compris entre 15 et 40 mg par 24 heures. Cette précision est bien entendu toute relative et ces limites seront modifiées ultérieurement lorsque le nombre de sujets témoins examinés sera suffisant. La notion de « sujets à pathologie discrète » est, par ailleurs, extrêmement critiquable. Quoi qu'il en soit, il nous semble que les limites proposées par Gruson (15 à 35 mg/24 heures) sont discrètement basses pour un sujet adulte, et que le **chiffre moyen approche 30 mg entre 20 et 50 ans, 25 mg entre 50 et 70 ans.**

Il est nécessaire, par ailleurs, de doser plusieurs échantillons car certaines variations peuvent se produire d'un jour à l'autre chez le même sujet. Kocher propose une étude basée sur trois jours consécutifs.

Nous n'avons pu effectuer ces trois dosages chez le même malade que dans quelques cas seulement. Le taux d'hydroxyproline urinaire de ces sujets est alors suivi de (taux moyen) ou de (m).

---

(1) Sur tous nos tableaux, les résultats sont exprimés en mg 24 heures.

TABLEAU XII

Valeur normale de l'hydroxyprolinurie chez l'adulte

AUTEURS	TECHNIQUE	NOMBRE DE CAS	TAUX MOYEN	TAUX EXTREMES
ZIFF (1956)	Wiss	8 (22-74 ans)	21,8	14,9 — 33
SJOERDSMA et Coll. (1958)	Wiss mod.	12 (18-25 ans)	25,1	14 — 38,7
PROCKOP (1960)	Prockop	20		15 — 62
JASIN et Coll. (1962)	Prockop	12	37,9	
RUBEGNI et Coll. (1962)	Neuman mod	48 (20-77 ans)	31,5	17 — 70
KLEIN et Coll. (1962)	Neuman mod	20 (24-44 ans)	27,6	18,6 — 36,1
DULL et HENNEMANN (1963)	Prockop	7 (20-68 ans)		8 — 40
BENOIT et Coll. (1963)	Prockop	23 Hommes (12	38,3	15 — 60
		Femmes (11)	27	10 — 47
KIBRICK (1963)	Prockop	6 (27-33 ans)	25,7	17,3 — 46,4
LENZI et Coll. (1963)			30,4	
KIVIRIKKO et Coll. (1964)	Prockop	11 (17-51 ans)	29,1	18,8 — 40,9
PLATT et Coll. (1964)	Prockop	8	21	9 — 28
SATWEKAR (1964)			11,2	
BONADONNA et Coll. (1965)	Prockop	12 Hommes (6)	28	20,6 — 41
		Femmes (6)	21,5	18,2 — 25,3
LEJEUNE et Coll. (1966)	Prockop	35	32,2	8,6 — 59,5
KOCHER (1966)	Vuille	26 (19-52 ans)	23	13 — 37
GRUSON et Coll. (1966)	Wessner	14	25,1	
CEBECAUER (1966)			21	
BOREL et Coll. (1967)		25	27,2	

TABLEAU XIII

Sujets adultes témoins

BOU...	60 ans	22 mg (m)
CAS....	43 ans	29 mg
MOR...	38 ans	45 mg
BLO...	50 ans	18 mg
CHE...	28 ans	45 mg
PET...	35 ans	46 mg
GIL...	31 ans	26,5 mg
SIF...	38 ans	32 mg
MAI...	65 ans	7,5 mg
GIR...	45 ans	17 mg
FOR...	54 ans	27,5 mg
FER...	29 ans	30,5 mg
COR...	45 ans	34 mg
CAS...	50 ans	31,5 mg (m)
ANT...	29 ans	19,5 mg
DOR...	55 ans	19 mg
ISB...	67 ans	36 mg (m)
TEM...	60 ans	22,5 mg
RAP...	61 ans	35 mg
FRO...	34 ans	17,5 mg
DRE...	54 ans	14 mg (m)
CAS...	50 ans	31,5 mg (m)

L'hydroxyproline libre et les hypropeptides

Le dosage de l'hydroxyproline libre urinaire ne semble pas retenir l'attention de nombreux auteurs. Les taux normaux proposés sont de 0,51 mg/24 heures (Ziff), 0,23 mg (Lenzi) et 0,70 (Cebecauer).

Le dosage des hypropeptides urinaires est en cours d'étude, depuis la description des 5 « pics » de Meilman (1961). Ainsi Borel distingue deux fractions séparées par Dowex I, l'une est de 12,5 mg et l'autre de 14 mg/24 heures — avec un taux d'hydroxyproline totale de 27,2 mg.

Pour Kibrick, le taux normal de prolylhydroxyproline est de 18,2 mg/24 heures.

TABLEAU XIV

Hydroxyproline libre en mg/24 h.

ZIFF (1956) .....Taux moyen :	0,51	Extrêmes	: 0,26 — 0,79
		20 - 30 ans	: 0,24 — 0,63
LENZI (1963) .....Taux moyen :	0,23	30 -	: 0,10 — 0,46
CEBECAUER (1966)Taux moyen :	0,70		

Hydroxyprolinurie rapportée à la surface corporelle

L'étude de l'hydroxyprolinurie par mètre carré et par 24 heures est proposée par Anderson, puis par Laitinen. Cette précision semble peu utilisée chez l'adulte, mais elle semble intéressante chez l'enfant (Job).

Par ailleurs, le rapport hydroxyproline/créatinine est proposé par Allison et plus particulièrement chez l'enfant par Whitehead (1965).

Enfin, Ziff propose l'expression de l'hydroxyprolinurie en pourcentage d'acides aminés totaux. Ce rapport semble peu employé bien qu'il présente un intérêt certain au cours d'états physiologiques (croissance, grossesse) ou pathologique (brûlures, maladie de Wilson), accompagnés d'une hyperaminoacidurie.

Corrélations

Si l'on examine le problème des corrélations de l'hydroxyprolinurie avec certaines constantes biométriques ou biologiques, on peut constater qu'il ne semble pas y avoir de corrélations avec la surface corporelle ou la taille osseuse (Moskowitz, 1965) et que celles concernant les paramètres du métabolisme calcique sont très discutées. Ainsi, Klein, puis Leroy — en 1965 — estiment qu'il existe une corrélation significative avec les phosphatases alcalines. La même année, Moskowitz puis Gennari infirment cette notion. Une corrélation négative entre le bilan calcique et l'hydroxyprolinurie est possible, mais la corrélation la plus significative se fait avec l'ostéolyse (Smith, 1964 - Genneri, 1965 - Gruson, 1966).

Gruson, dans une récente mise au point (1967) estime qu'il existe une corrélation négative avec le bilan calcique (en particulier dans l'ostéoporose), une corrélation positive avec le turn-over (dans les ostéoporoses, ostéomalacies, cancers secondaires des os, hyperparathyroïdie), une corrélation positive avec l'accrétion et la résorption (ostéoporoses, affections malignes, hyperparathyroïdie). Pour Meunier (1967) il n'existe pas de corrélations entre hydroxyproline urinaire et l'importance des surfaces de résorption étudiées chez 30 malades. Nous ne pouvons encore tirer de conclusions d'une étude portant sur 10 malades explorés à l'aide de calcium 45 dans le Service du Professeur Roux (Hôpital de la Timone). Quoiqu'il en soit, le problème des corrélations doit être revu avec chaque affection étudiée.

TABLEAU XV

Excrétion en mg/m²/24 heures

ANDERSON (1965)	Entre 20 et 30 ans ..	Hommes : 24 Femmes : 19,7
	Entre 31 et 65 ans ..	Hommes : 16,9 Femmes : 15,9
LAITINEN (1966)	Entre 22 et 55 ans ..	de 8,5 à 23,5
GRUSON (1967)	Adulte	15,3

Excrétion hydroxyproline/créatinine

ALLISON (1966)	De 18 à 50 ans	0,025

Excrétion en pourcentage par rapport à l'aminoacidurie totale

ZIFF et KIBRICK (1956)	1,36	Extrêmes : 0,94 — 2,12

2 - VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES DE L'HYDROXYPROLINURIE

D'une façon générale, l'excrétion des acides aminés dans les urines dépend de nombreux facteurs, en particulier l'âge, la nutrition, les hormones, le fonctionnement du foie, des reins, la présence de maladies malignes, divers poisons et les erreurs congénitales du métabolisme (Schreier, 1962). Nous ne nous intéresserons dans ce chapitre, qu'aux variations en rapport avec l'âge — et le sexe —, et la nutrition. Les autres facteurs seront étudiés plus loin.

Variations suivant le sexe

Chez l'adulte, il semble que l'hydroxyprolinurie soit discrètement supérieure chez l'homme, par 24 heures, de 11 mg pour Benoît (1963), de 7 mg pour Bonadonna (1965), par mètre carré et par 24 heures de 1 à 4 mg pour Anderson (1965). Par contre le rapport hydroxyproline/créatinine est identique dans les deux sexes (Allison, 1966). Chez le jeune enfant et chez le vieillard les taux sont plus élevés dans le sexe féminin (Anderson).

Pour Kocher, il n'existe pas de différence significative entre les deux sexes. Nous trouvons un taux moyen de 26,5 chez les femmes et de 31 mg/24 heures chez les hommes.

Par ailleurs, nous pouvons signaler ici que pendant la grossesse, le taux d'hydroxyprolinurie s'élève (Dull, 1962 - Bocci, 1966), le taux passant en moyenne (1) de 25 à 50 mg/24 heures (Leroy, 1965), et chutant rapidement après la naissance. Toutefois la grossesse normale est caractérisée par une hyperaminoacidurie généralisée, l'excrétion de l'histidine, de la glycine et de la thréonine étant particulièrement augmentée.

Variations suivant l'âge

1° *L'hydroxyprolinurie de l'enfant.*

Chez le jeune enfant, l'excrétion de l'hydroxyproline urinaire totale est 2 à 3 fois celle de l'adulte (4 à 5 fois si l'hydroxyprolinurie est exprimée en pourcentage d'aminoacidurie totale) (Ziff, 1956). Pour Westall (1955) si l'hydroxyproline libre est rarement observée dans les urines, elle apparaît chez l'enfant vers le 5^{me} ou le 6^{me} jour, pendant 5 à 6 mois. Quant à l'hydroxyprolinurie totale elle est basse à la naissance (8 mg/24 heures - Allison) puis subit une rapide augmentation vers le 10^{me} jour (Klein, 1966) pour atteindre 47 mg vers le 33^{me} jour (Allison). Par ailleurs le rapport hydroxyproline/

(1) De la 19^{e} à la 33^{e} semaine de la grossesse. Cette augmentation est accompagnée d'une augmentation du taux de phosphatases alcalines.

créatinine augmente rapidement de la naissance jusqu'à un mois, puis diminue de 6 mois à 5 ans. L'excrétion totale est maximum entre 10 et 14 ans et des pics d'excrétion correspondent à des périodes de croissance active (Jasin, 1962).

Ainsi, au cours de la croissance, l'hydroxyproline urinaire subit une *première augmentation* entre 5 jours et 5 mois, correspondant d'une part à l'hyperaminoacidurie du premier mois qui est transitoire, qui touche également la lysine, la taurine, la maturation du fonctionnement rénal vis-à-vis des acides aminés étant extrêmement variable,

d'autre part, à une augmentation du turnover du collagène qui correspond à un changement du degré de croissance.

TABLEAU XVI

AUTEURS	AGE	TAUX MOYEN	TAUX EXTREMES
Hydroxyprolinurie totale chez l'enfant			
ZIFF (1956)	5 - 14 ans	63,7	38,4 — 126,3
JASIN (1962)	5 - 17 ans	74,3	
RAVENI (1962)	0 - 10 ans		72 — 100
	10 - 20 ans		31 — 81
DULL (1962)	Avant puberté		27 — 96
LEROY (1963)	3 - 20 mois		18 — 43
KIBRICK (1964)	10 - 16 ans		100 — 700
Hydroxyproline libre chez l'enfant			
RAVENNI (1963)	0 - 10 ans		0,84 — 1,38
	10 - 20 ans		0,46 — 1,49

TABLEAU XVII

Variations avec l'âge

I. — *Jusqu'à 20 ans de l'hydroxyprolinurie/m_2/24 heures*			
ANDERSON (1965)	de 0 à 10 ans	Garçons	: 60,4
		Filles	: 71
	de 11 à 20 ans	Garçons	: 64,3
		Filles	: 27,7
LAITINEN (1966)	de 18 à 21 ans	Taux extrêmes	: 13 — 28
JOB (1966)	de 1 à 6 mois : 130	extrêmes	: 68 — 267
	de 7 à 11 mois : 80	»	: 37 — 123
	de 1 à 9 ans : 60	»	: 33 — 98
	de 10 à 14 ans : 64	»	: 23 — 40
De l'hydroxyprolinurie en pourcentage par rapport à l'aminoacidurie totale			
ZIFF et KIBRICK (1956)	de 5 à 14 ans : 6,25	Taux extrêmes	2,96
			9,28

Une *deuxième augmentation* se situe entre 10 et 14 ans. Il existe donc une relation étroite entre la croissance et l'excrétion d'hydroxyproline, dûe à la présence d'une quantité accrue de collagène soluble métaboliquement actif.

2° *L'hydroxyprolinurie du vieillard.*

Il existe peu de documents relatifs à l'hydroxyprolinurie du vieillard. Pour Moskowitz (1965) et pour Anderson (1965), le taux n'est pas modifié. Toutefois, depuis les travaux de Ravenni (1962) il semble admis — sans que de nouveaux documents en aient fait la preuve — que l'hydroxyproline urinaire diminue chez le sujet âgé.

Notre expérience porte sur 10 cas. Le taux moyen que nous obtenons est de 20 *mg/24 heures*. Ce chiffre est voisin de celui rapporté par Ravenni (22 mg/24 heures) et traduit donc une diminution nette chez le sujet âgé. Il importe de signaler que malgré une surveillance stricte de nos malades, nous avons tenu à rejeter tout dosage correspondant à une diurèse inférieure à 600 ml.

Nous retrouvons un taux de 21 mg/24 heures dans un groupe de 22 sujets (30 dosages) réunissant nos 10 témoins et 12 malades présentant des manifestations plus prononcées de senescence, c'est-à-dire un déficit musculaire important ou des phénomènes de déminéralisation.

Cette diminution de l'hydroxyproline urinaire correspond à des modifications du métabolisme du collagène : en effet, il ne semble pas y avoir de modifications importantes de la clearance rénale ni de la transformation d'hydroxyproline en urée. Par ailleurs, Schaub (1963) décrit une diminution du collagène soluble musculaire chez le vieillard et Lindstedt (1961) une diminution des pools d'hydroxyproline à demi-vie courte. Enfin, l'exploration au calcium 45 chez le sujet âgé révèle une diminution des échanges osseux.

Cette notion apporte une conclusion pratique : une hydroxyprolinurie à 40 mg/24 heures peut être considérée comme normale chez un adulte, mais elle est vraisemblablement pathologique chez un sujet âgé de plus de 70 ans.

TABLEAU XVIII

Sujets âgés témoins

DIE...	71 ans	12,5 mg
LUI...	80 ans	17,5 mg
CRE...	85 ans	34 mg (taux moyen)
PIE...	71 ans	6,5 mg (taux moyen)
COL...	72 ans	25 mg
ROU...	71 ans	23 mg (taux moyen)
MOR...	84 ans	28 mg
SIG...	78 ans	18,5 mg
BOT...	74 ans	24 mg
DUZ...	71 ans	11,5 mg

TAELEAU XIX

Hydroxyprolinurie totale chez le sujet âgé

AUTEURS	NOMBRE DE CAS	AGE	TAUX moyen	TAUX extrêmes
RAVENNI (1962)		60 - 70 ans	26	
		70	22	
MOSKOWITZ (1965)	18		27,7	10,4 - 50

Hydroxyprolinurie/m²/24 heures

ANDERSON (1965)	66 - 75 ans	Hommes :	14,8
		Femmes :	16,9

TABLEAU XX

Variations avec l'âge

II. — *Après 20 ans*

De 20 à 50 ans	(13 sujets)	30,1 mg/24 heures
De 51 à 70 ans	(8 sujets)	25,4 mg/24 heures
Après 70 ans	(10 sujets)	20,1 mg/24 heures

Variations suivant l'alimentation

D'une façon générale, il n'existe pas de relation *directe* entre le contenu protéique de l'alimentation et les acides aminés excrétés, car de nombreux organes sont branchés sur le circuit (Schreier, 1962) et l'excrétion des acides aminés libres n'est pas influencée par un surdosage en protéines (Soupart, 1962).

Pour Prockop, il en est de même pour l'hydroxyproline, et il n'existe pas de modifications de l'excrétion de cet acide aminé lors de diète prolongée en hydroxyproline ou lors d'apport limité de gélatine ou d'hydroxyproline.

Toutefois, pour Ziff (1956) si on ajoute de la viande au régime d'un sujet, l'hydroxyprolinurie augmente (de 26,9 à 31,5 mg/24 heures). L'apport de 4 g d'hydroxyproline (plusieurs fois l'apport normal) n'entraîne pas d'augmentation significative (1). L'apport de 28 g de gélatine (soit 4 g d'hydroxyproline) multiplie par 4 l'excrétion d'hydroxyproline, avec retour à la normale le jour suivant. Par ailleurs, Whitehead (1965) met en évidence une chute du rapport

(1) Par rapport à l'hydroxyprolinurie retrouvée au cours d'un régime en contenant 80 fois moins.

hydroxyproline/créatinine chez l'enfant mal nourri et Goidanich (1965) démontre que lors d'un régime dépourvu d'hydroxyproline, on ne retrouve pas d'hydroxyproline libre dans les urines.

D'autre part, il ne semble pas qu'il y ait de relation entre la quantité de liquide apporté et l'excrétion d'acides aminés — sauf chez le jeune enfant (Schreier) — et l'hydroxyprolinurie ne semble pas varier lors de déshydratation ou lors de surcharge hydrique.

Il ne semble donc pas que le régime puisse influencer de façon importante l'hydroxyprolinurie, cependant de nombreux auteurs proposent lors des dosages un régime alimentaire particulier.

TROISIEME PARTIE

L'HYDROXYPROLINURIE EN PATHOLOGIE

Nous ne nous intéresserons ici qu'aux modifications de l'hydroxyprolinurie totale, après un bref rappel sur les variations pathologiques de l'hydroxyproline libre et des hypropeptides.

En 1952, Carsten décrit une augmentation de l'hydroxyproline libre dans les P.C.E., augmentation confirmée par Ziff (1956). Cette élévation se retrouve dans l'ostéoporose (Lenzi, 1963). Bien que Moskowitz (1965) pose le problème des relations entre l'hydroxyproline libre et le métabolisme du collagène, Borel (1967) rapporte une augmentation du taux urinaire dans certaines néoplasies et dans l'hyperparathyroïdie, et affirme l'intérêt du dosage de l'hydroxyproline libre dans les maladies de l'enfant, en particulier le rachitisme (Christiaens, 1965), dans l'hydroxyprolinémie (Schafer, 1961), la galactosémie (Robertson, 1959), les nanismes et la maladie de Wilson (Stein, 1954 et Klein, 1965).

Les modifications de l'élimination urinaire des hypropeptides ont été étudiées par Meilman (1963) qui estime que l'aspect des 5 pics décelés par chromatographie est identique chez le sujet normal, dans la P.C.E., la sclérodermie, le syndrome de Marfan, la maladie de Hurler et le post-partum. Cet aspect est le même avec un régime riche en gélatine ou pauvre en hydroxyproline. Mais il semble que le pic « C » soit absent dans le lupus érythémateux disséminé et dans les morphées généralisées. Kibrick (1964) décèle une augmentation du taux de prolyl-hydroxyproline inconstante, dans la maladie de Duchenne. Pour Efron (1966) il existe peu de modifications des hypropeptides dans l'hydroxyprolinémie si ce n'est la présence d'un pic « A_1 » découvert par Meilman en 1963 et qui est sans doute un artefact dû à la présence d'une grande quantité d'hydroxyproline libre. Enfin pour Borel (1967), les hypropeptides « acides » sont élevés dans les P.C.E. (fait déjà signalé par Kibrick) et la maladie de Paget. Les hypropeptides « basiques » sont augmentés dans les néphrites et les métastases.

MALADIES DU COLLAGENE

Ziff (1956) ne trouve pas de différence entre l'excrétion d'hydroxyproline totale de l'adulte normal et celle de sujets présentant une maladie du collagène. Les valeurs moyennes sont légèrement supérieures à celles des contrôles, mais sur 8 malades étudiés le taux ne dépasse par 40,1 mg/24 heures. Toutefois, l'hydroxyprolinurie peut s'élever dans le syndrome de Gougerot-Sjögren (Katz, 1965), dans la périartérite noueuse (Laitinen, 1966), dans la sclérodermie évolutive ou dans le lupus traité par la cortisone (Lejeune, 1966).

Pour Ziff, les lésions du tissu conjonctif sont relativement focalisées et vraisemblablement une faible partie du collagène du corps subit une dégradation. Il est possible par ailleurs que les hypropeptides provenant de la dégradation du collagène subissent une dégradation métabolique jusqu'au stade d'hydroxyproline libre et peuvent ne pas apparaître dans les urines, en particulier s'il s'agit de quantités relativement faibles. Ainsi, pour Smith (1965) le dosage de l'hydroxyprolinurie ne présente pas d'intérêt dans les maladies du collagène.

Nous trouvons, chez 6 malades, un taux moyen normal (30 mg par 24 heures) :

MIC...	(LEAD)	.....	21 mg
MOR...	(LEAD)	.....	28 mg
		.....	41 mg
MAS...	(sclérodermie)	.....	26 mg
ORL...	(LEAD)	.....	32 mg
		.....	44 mg
		.....	54 mg
ANN...	(LEAD)	.....	14 mg
LUB...	(HORTON)	.....	41 mg

L'augmentation progressive de l'hydroxyprolinurie dans le quatrième cas (ORL) est en rapport avec une évolution sévère, mais également avec une corticothérapie et une immobilisation prolongées.

AFFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES

AFFECTIONS ARTICULAIRES

Etant donné la part primordiale qu'occupent les altérations du tissu conjonctif dans les lésions histologiques des rhumatismes inflammatoires, on pourrait s'attendre à de grandes modifications de l'hydroxyprolinurie au cours des affections touchant le système articulaire. En fait, depuis les travaux de Ziff (1956) il semble que ces modifications soient discrètes ou difficilement interprétables.

Polyarthrite chronique évolutive

Pour Ziff, il existe peu de différence entre l'hydroxyprolinurie des sujets normaux et celle des malades, bien que la valeur moyenne de ces derniers soit légèrement supérieure au taux de contrôle. De même, Trnavsky (1966) trouve une hydroxyproline urinaire normale — avec toutefois une hydroxyproline plasmatique élevée —. Hartmann (1966), par contre, trouve un taux élevé 18 fois sur 20. Lejeune (1966), sur 8 cas étudiés, décrit un taux élevé lors de polyarthrite très évolutive (chiffre moyen : 67 mg) alors que dans les formes stabilisées ou peu évolutives, le taux est bas (chiffre moyen : 23 mg/24 heures).

TABLEAU XXI

Polyarthrite chronique évolutive

N° 1 - LAR...	36 ans	36 mg
N° 2 - MAT...	64 ans	25,5 mg (taux moyen)
N° 3 - GAR...	72 ans	45 mg
N° 4 - ISR...	76 ans	20,5 mg (taux moyen)
N° 5 - NAR...	82 ans	22 mg
N° 6 - CAS...	57 ans	19 mg
N° 7 - CAR...	58 ans	24 mg
N° 8 - PET...	50 ans	41 mg
N° 9 - TOM...	74 ans	14 mg
N° 10 - JOU...	67 ans	53 mg
N° 11 - BOU...	63 ans	37,5 mg (taux moyen)
N° 12 - TRO...	72 ans	6 mg
N° 13 - QUE...	64 ans	27,5 mg
N° 14 - GAR...	65 ans	48 mg
N° 15 - MAR...	52 ans	37,5 mg (taux moyen)
N° 16 - LAU...	64 ans	31 mg
N° 17 - CAN...	84 ans	33 mg

Notre expérience porte sur 17 cas. Le taux moyen est peu modifié, il est de 30,5 mg/24 heures. L'hydroxyprolinurie semble effectivement élevée dans les formes graves (observation n° 10). Dans une forme de début monoarticulaire elle est dans les limites de la normale (observation n° 1).

Le taux moyen des sujets ayant reçu une corticothérapie est discrètement supérieur (32 mg/24 heures) à celui des malades n'en ayant pas reçu (29 mg/24 heures).

Spondylarthrite ankylosante

Sur 6 dosages effectués chez 2 malades, Lejeune (1966) trouve un taux d'hydroxyprolinurie bas, compris entre 10 et 38,4 mg/24 heures.

Sur 6 malades, Gruson relève 4 cas avec une hydroxyprolinurie modérément élevée. Chez un sujet de 27 ans, nous trouvons un taux de 62,5 mg/24 heures.

Rhumatisme articulaire aigu

Kamynina (1966) rapporte un taux élevé d'hydroxyprolinurie au cours du rhumatisme articulaire aigu — alors que ce taux est normal dans les amygdalites —, et les chiffres reviennent à la normale lors de la régression du processus. La même année, Laitinen rapporte également une augmentation du taux au cours de cette affection.

Nous-mêmes, trouvons un taux de 80 mg/24 heures chez une malade de 30 ans.

Rhumatisme articulaire subaigu

Notre expérience porte sur 6 cas, et nous retrouvons une hyperhydroxyprolinurie presque constante :

SIR...	63 ans	.....	45 mg
FOS...	54 ans	.....	54 mg (taux moyen)
BES...	64 ans	.....	21,5 mg
ROU...	52 ans	.....	79 mg
ROC...	23 ans	.....	47 mg (taux moyen)
BOR...	34 ans	.....	44 mg,

soit un taux moyen de 48,5 mg/24 heures.

Pseudopolyarthrite rhizomélique

Chez deux sujets âgés de plus de 70 ans, nous trouvons un taux de 30 mg et un taux de 48 mg/24 heures.

Autres affections articulaires

Nous retrouvons par ailleurs une hyperhydroxyprolinurie lors d'arthrites ou d'ostéoarthrites infectieuses, avec un taux de 41 mg (tuberculeuse) et un taux moyen de 59 mg (staphylococcique).

Au cours des arthropathies nerveuses, l'hydroxyprolinurie est normale pour Lejeune (1966) ; nous-mêmes, dans un cas, trouvons un taux de 20 mg/24 heures (moyenne de 3 dosages).

De même, il ne semble pas y avoir de modifications importantes au cours de la chondrocalcinose (Lejeune) ; une de nos malades, âgée de 77 ans, présente une hydroxyprolinurie de 16 mg/24 heures.

Au cours de l'arthrose, les chiffres obtenus sont normaux (Lejeune) et d'une façon générale les sujets présentant des phénomènes arthrosiques importants ont un taux égal à ceux des contrôles du même âge.

Dans les coxarthroses, nous trouvons un taux particulièrement élevé sans que l'on puisse rapporter cette modification à l'immobilisation ou aux traitements reçus par ces malades :

PIE...	73 ans	54 mg
HER...	70 ans	61 mg (taux moyen)
TOU...	71 ans	37,5 mg
LUG...	51 ans	30,5 mg
DAL...	76 ans	46 mg (taux moyen)
MON...	65 ans	46 mg
PIE...	73 ans	37 mg
FOS...	64 ans	31 mg

soit un taux moyen de 43,5 mg/24 heures.

Alors que chez 8 sujets présentant une arthrose rachidienne banale le taux moyen n'atteint pas 20 mg/24 heures, avec une moyenne d'âge de 70 ans.

Enfin, diverses affections ont été étudiées : ainsi dans le syndrome d'Ehler-Danlos, l'hydroxyprolinurie s'élève (Strauss, 1966 - Muhlbach, 1966). Dans un cas de goutte féminine nous trouvons un taux moyen de 62,5 mg/24 heures. Chez deux malades présentant une hyperuricémie l'hydroxyprolinurie est également élevée.

AFFECTIONS MALIGNES OSSEUSES

Alors qu'au cours des myélomes l'hydroxyprolinurie est normale (Hosley, 1965) ou modérément augmentée (en 1966 Lejeune trouve une hydroxyprolinurie élevée 4 fois sur 10, avec un taux moyen de 52 mg/24 heures, nous-mêmes trouvons sur 4 cas un taux moyen de 53 mg/24 heures avec un taux maximum de 108 mg dans un cas avec lésions osseuses étendues) et que, par ailleurs, dans les ostéosarcomes l'hydroxyprolinurie est discrètement augmentée (Lejeune), on peut trouver des taux très élevés au cours des cancers secondaires des os.

Ainsi, en 1964, Klein rapporte un taux moyen de 72,5 mg et Platt estime que l'on peut tirer des indications pronostiques : la durée moyenne de survie diminue lors d'hyperhydroxyprolinurie. Les chiffres moyens proposés sont voisins de celui proposé par Klein : 70 mg (Platt), 64 mg (Lejeune, 1966), 64 mg (Kocher, 1966) et d'une façon générale cette augmentation est inconstante (50 % des cas pour Lejeune) sans relation avec l'étendue des lésions (Kocher) ou avec le type de cancer primitif (Lejeune), la réduction de l'hydroxyprolinurie étant partielle au cours du traitement (Bonadonna, 1966).

Ces problèmes ont été repris par Gruson (1966) sur plus de 40 cas. Pour cet auteur, au cours des *cancers ostéolytiques* (30 cas), l'hydroxyprolinurie moyenne est de 52 mg/24 heures, un tiers des malades ayant un taux normal. L'hydroxyproline urinaire est peu augmentée dans les cancers peu étendus et augmentée de façon très importante dans les cancers étendus. Par ailleurs, il existe une corrélation significative avec la calciurie et le taux des phosphatases alcalines. Au cours des *cancers ostéocondensants*, l'hydroxyprolinurie est en général élevée, en relation avec l'étendue des lésions. Il existe une corrélation avec le taux de phosphatases alcalines mais pas de corrélation avec la calciurie — qui est en général basse dans les cancers ostéocondensants. Enfin, sous l'*influence du traitement*, l'hydroxyprolinurie diminue lors de traitements hormonaux ou cytolytiques.

TABLEAU XXII

Cancers secondaires des os

N° 1 - M. RIS...	52 ans	.....	37,5 mg
N° 2 - M^me^ TUC...	78 ans	.....	54 mg
		....	52 mg
N° 3 - M^me^ RIB...	42 ans	.....	85 mg
N° 4 - M. VIT...	70 ans	.....	215 mg
			260 mg
			260 mg
N° 5 - M^me^ ALB...	58 ans	.....	106 mg
N° 6 - M. SIN...	49 ans	.....	42 mg
			150 mg
			43 mg
			46 mg
			97 mg
			240 mg
N° 7 - M. LUG...	71 ans	.....	37,5 mg
N° 8 - M. AQU...	71 ans	.....	11,5 mg
			46 mg
			49 mg
N° 9 - M. AUD...	63 ans	.....	29 mg (ostéocondensant)
N° 10 - M. GIO...	71 ans	.....	72 mg (ostéocondensant)

D'une façon générale, nous nous trouvons en présence de taux très élevés (en moyenne 81 mg/24 heures), progressant avec la maladie, avec parfois de grandes variations dans une période de temps relativement courte (Obs. n° 6). L'influence d'un traitement majeur nous semble discrète : dans l'observation n° 2, le taux est passé de 54 à 52 mg/24 heures après 3 mois de traitement, dans l'observation n° 4, de 260 à 236 mg/24 heures après un mois de traitement. Quant à l'aggravation biologique constatée lors des derniers dosages dans l'observation n° 6, elle a lieu alors que la thérapeutique a amené une amélioration clinique.

OSTEOPOROSE, OSTEOMALACIE, RACHITISME

Les données de la littérature concernant l'hydroxyprolinurie au cours des ostéoporoses sont assez contradictoires. Pour l'école

italienne (Lenzi, Ravenni), l'hydroxyproline urinaire est élevée dans les ostéoporoses d'étiologies diverses (1963), pour Moskowitz (1963) le taux urinaire est normal (28,7 mg pour 11 cas) ou discrètement élevé (30,8 mg/24 heures) dans les ostéoporoses sévères. Enfin, Kocher (1966) propose un taux moyen de 18 mg/24 heures (16 cas d'ostéoporoses diverses avec une moyenne d'âge de 65 ans).

Dans l'ostéoporose post-ménopausique, Klein (1964) trouve un taux moyen de 20 mg/24 heures, dans l'ostéoporose sénile Lejeune propose un taux de 34 mg/24 heures, alors que dans l'ostéoporose idiopathique du jeune l'hydroxyprolinurie est abaissée. Enfin, l'hydroxyprolinurie serait élevée dans l'ostéoporose cortisonique et celle de la jeune femme (Lejeune, 1966), (Gruson, 1967 et Hioco, 1967).

Nous trouvons les résultats suivants chez nos malades :

Ostéoporose commune :

N° 1 - MOU...	69 ans	.....	33,5 mg (taux moyen)
N° 2 - CAS...	81 ans	.....	6,5 mg (taux moyen)
N° 3 - BUT...	67 ans	.....	15,5 mg (taux moyen)
N° 4 - CAN...	64 ans	.....	28,5 mg (taux moyen)

Ostéoporose idiopathique :

N° 5 - THE..	58 ans	.....	37 mg (taux moyen)
N° 6 - ROU...	46 ans	.....	33,5 mg
N° 7 - BOU...	50 ans	.....	43 mg (taux moyen)

Ostéoporomalacie du vieillard :

N° 8 - MOI...	80 ans	.....	23 mg (taux moyen)
N° 9 - JUD...	81 ans	.....	19 mg

Sujets immobilisés présentant — à des degrés divers — une déminéralisation :

N° 10 - ROI...	73 ans	.....	44 mg (taux moyen)
N° 11 - LAN...	72 ans	.....	51 mg
N° 12 - MIR...	80 ans	.....	34 mg
N° 13 - DUP...	68 ans	.....	49 mg (taux moyen)
N° 14 - NAK...	64 ans	.....	55 mg
N° 15 - AZN...	60 ans	.....	60 mg
N° 16 - TES...	46 ans	.....	46 mg
N° 17 - DEL...	54 ans	.....	35,5 mg (taux moyen)
N° 18 - SCH...	74 ans	.....	19 mg
N° 19 - CLE...	58 ans	.....	74 mg
N° 20 - BAR...	40 ans	.....	50,5 mg

Il semble donc qu'il y ait peu de modifications de l'hydroxyprolinurie au cours de l'ostéoporose si l'on veut bien étudier à part les ostéoporolyses : nous retrouvons l'augmentation décrite par Lejeune au cours des ostéoporoses d'immobilisation, avec un taux moyen de 47 mg/24 heures. Signalons que dans les observations 13, 14 et 17 l'hydroxyprolinurie diminue, après mobilisation et massages, de 25 % en moyenne.

En ce qui concerne l'ostéomalacie, il existe peu de documents publiés : Lejeune (1966) dans un cas d'ostéomalacie d'apport trouve un taux de 27 mg ; Kocher, la même année, chez 4 malades présentant un syndrome de malabsorption intestinale, trouve une hyperhydroxyprolinurie chez 2 sujets (38 et 50 ans), ostéomalaciques (59 et 63 mg). Gruson (1967) donne une augmentation de l'hydroxyprolinurie sur 4 ostéomalaciques, et Hioco (1967) décrit cette hyperélimination chez 8 malades sur 13.

Chez 4 malades étudiés nous trouvons les taux suivants :

N° 1 - PAY...	60 ans	.....	28,5 mg
N° 2 - CIA...	65 ans	.....	30 mg
N° 3 - LEP...	61 ans	.....	46,5 mg (taux moyen)
N° 4 - DAN...	61 ans	.....	76 mg

Nous retrouvons les corrélations positives entre hydroxyprolinurie et turn over, décrites par Gruson. Pour Hioco la vitamine D augmente le taux d'élimination. Si nous retrouvons une hyperhydroxyprolinurie après vitamine D dans les ostéoporoses il nous semble, par contre, que ce traitement entraîne parfois une chute de l'élimination (observations 2 et 4 où le taux passe respectivement à 19 et 28,5 mg/24 heures).

Après les premiers travaux de Plaquet (1955) qui isole dans les urines de nourrissons rachitiques un oligopeptide contenant de la proline et de l'hydroxyproline, il est admis actuellement que le taux d'hydroxyproline urinaire est élevé dans le rachitisme (Leroy, 1963 - Kivirikko, 1965 - Christiaens, 1965). Ainsi Leroy donne des taux de 45 à 75 mg/24 heures chez l'enfant de 3 à 20 mois (le chiffre normal est de 18 à 43 mg) présentant un rachitisme vitamino-résistant. Cette augmentation est parallèle à celle des phosphatases alcalines, les deux anomalies disparaissent après vitaminothérapie.

Dans le scorbut, l'hydroxyproline libre est augmentée, alors que le taux d'hydroxyproline liée est normal (Cubillo-Ferreira, 1961) ou diminué (Martin, 1961).

AFFECTIONS OSSEUSES DIVERSES

Dans la maladie de Paget, l'augmentation de l'hydroxyprolinurie est habituelle et peut atteindre des taux extrêmement élevés (Dull, 1963 - Benoît, 1963). Pour Kocher ces valeurs peuvent atteindre 10 à 20 fois la normale, avec des taux extrêmes de 90 à 690 mg/24 heures et un taux moyen de 253. Lejeune (1966) dans une étude portant sur 19 cas, rapporte des taux compris entre 26,9 et 998 mg/24 heures avec un taux moyen de 307,8. Il ne semble pas y avoir de parallélisme entre l'hydroxyprolinurie et l'étendue de la maladie. Ainsi Lejeune trouve des taux élevés dans les Paget mono-osseux — tout en soulignant que les chiffres supérieurs à 300 mg se voient essentiellement dans les formes à foyers multiples.

Sur 11 cas étudiés nous trouvons un taux moyen de 130 mg/24 heures avec des chiffres extrêmes de 21 à 552 mg. Dans les formes localisées le chiffre moyen est relativement bas (BAZ..., TER...,

POE... et GUE...), aux environs de 40 mg/24 heures. Toutefois nous avons pu suivre l'évolution d'un cas (BAZ...), où le taux est passé de 22 mg à 57 mg.

L'hydroxyprolinurie est un test susceptible d'apprécier l'évoluvité de l'affection comme le signale Lejeune. L'apparition d'une dégénérescence sarcomateuse — pour le même auteur — n'entraîne pas de modifications particulières, ou des modifications discordantes.

Cette augmentation de l'hydroxyproline urinaire reflète l'importance des remaniements métaboliques de l'os pagétique, bien que pour Klein (1964) il existe des cas où ce taux demeure normal alors que le turn-over est élevé. Par ailleurs, il n'y a pas de corrélations avec la calciurie (Lejeune) ni avec les phosphatases alcalines (Kocher), ou bien cette dernière concordance est inconstante (Lejeune).

MALADIE DE PAGET

NOMS	*Hydroxyproline/ 24 heures*	*Phosphatases alcalines (u Br)*	*Calciurie/ 24 heures*
SIR...	54	8	240
	54		
TRO...	90	18	
BAZ...	22	2	70
	21		
	57		
TER...	27	26	250
	32		
NAR...	22		
	48		
POE...	22	10	200
	24		
GUE...	73		
MUR...	60	44	100
JOS...	552	88	300
RAN...	104	1,5	110
CAC...	96	52	300

Dans la dysplasie fibreuse des os, l'hydroxyprolinurie est élevée (Goidanich, 1965), mais les résultats obtenus sont variables, ainsi pour Lejeune (1966) le taux est élevé deux fois sur trois.

Au cours de la maladie de Morquio, l'hydroxyprolinurie est normale (Goidanich).

Au cours du syndrome de Marfan, l'hydroxyprolinurie est élevée (Jones, 1964 - Smiley, 1964 - Ravenni, 1965), en rapport avec une augmentation du collagène soluble et une dégradation rapide. En fait, le syndrome de Marfan chez l'adulte ne s'accompagne pas tou-

jours d'hyperhydroxyprolinurie (Sjœrdsma, 1961) et cette augmentation se voit essentiellement avant 20 ans ; elle est le reflet d'une augmentation du degré de croissance (Mac Kusick, 1966). Par ailleurs, au cours du lathyrisme — maladie expérimentale que l'on peut rapprocher du syndrome de Marfan — l'hydroxyprolinurie est également augmentée (Martin, 1961 - Jasin, 1962 - Hartmann, 1966).

En 1966, divers travaux ont été consacrés à l'hydroxyprolinurie au cours des nécroses aseptiques des os. Lejeune trouve un taux normal chez 5 sujets présentant une ostéonécrose aseptique de la tête fémorale. Hirthe trouve une hydroxyprolinurie normale dans la maladie de Legg-Perthes (12 cas) et un taux élevé 2 fois sur 5 dans la maladie de Scheuermann.

Enfin, pour Muhlbach, le taux est élevé dans l'épiphysiolyse de la tête fémorale.

Au cours de la maladie de Lobstein, l'hydroxyprolinurie est normale pour Goidanich (1965) et Kocher (1966), elle est augmentée pour Muhlbach (1966), ou diminuée (Mitoma, 1959 Christiaens, 1965). En fait, pour Lejeune, lors d'affection très évolutive (l'auteur cite le cas d'un sujet de 15 ans présentant 35 fractures avec un taux de 206 mg/24 heures), l'hydroxyprolinurie est élevée. Dans d'autres cas stabilisés, le taux est bas (17 mg). Nous trouvons le chiffre de 18 mg/24 heures dans un cas de maladie de Lobstein stabilisée, âgé de 52 ans.

Il n'est pas impossible que les taux élevés relevés dans la littérature correspondent à une période de consolidation de fracture (pour Leroy, 1965, l'hydroxyprolinurie s'élève lors de la consolidation).

AFFECTIONS MUSCULAIRES

Le dosage de l'hydroxyprolinurie au cours d'affections musculaires présente un double intérêt : les fibres musculaires sont souvent remplacées par du tissu conjonctif, et d'autre part il existe un retentissement osseux plus ou moins prononcé au cours des maladies du muscle.

Dans les myopathies.

Dans une étude portant sur 9 cas de maladie de Duchenne, Kibrick (1964) signale une diminution de l'hydroxyprolinurie. Les chiffres obtenus sont de 35 à 123 mg/24 heures entre 5 et 10 ans, de 70 à 170 mg entre 10 et 14 ans, et de 27 à 41 mg après 15 ans. Pour Kibrick ces taux sont inférieurs à ceux de contrôle, et cette diminution est particulièrement marquée entre 11 et 14 ans. Par ailleurs, l'excrétion de prolylhydroxyproline est parfois relativement élevée. Kibrick signale enfin que dans un cas de myopathie facio-scapulo-humérale et dans un cas de myopathie des ceintures l'hydroxyproline urinaire est également diminuée.

Notre expérience personnelle porte sur 8 cas de myopathie. Entre 9 et 16 ans (6 cas), le taux moyen est voisin de 70 mg/24 heures et on peut noter un taux particulièrement bas chez 3 sujets ayant entre 11 et 14 ans :

BER...	(14 ans)	.....	50 mg
GHE...	(11 ans)	.....	49 mg
RIV...	(12 ans)	.....	64 mg

Chez les sujets plus jeunes, le taux est relativement normal (94 et 158 mg/24 heures) et chez un malade de 16 ans il est abaissé (26 mg/24 heures).

Par contre, chez l'adulte, nous trouvons dans 2 cas, une hydroxyprolinurie discrètement élevée à 45 et 55 mg/24 heures.

L'interprétation de la chute de l'hydroxyprolinurie au cours des myopathies chez l'enfant est très délicate. Pour Kibrick, lors des dystrophies musculaires, les muscles contiennent 25 % de plus de collagène et il existe une accumulation de ce collagène. En fait, de nombreux facteurs doivent être pris en considération, ainsi l'immobilisation, le retentissement plus ou moins important sur le tissu osseux et l'aminoacidurie des dystrophies musculaires.

Dans d'autres affections musculaires.

Au cours de la maladie de Steinert, Kibrick trouve également un taux diminué. Dans un cas étudié, nous trouvons un taux de 19,5 mg

chez un adulte. Dans la myasthénie, l'hydroxyprolinurie est normale (Kibrick, Kivirikko, 1965), nous trouvons un taux moyen de 17,5 mg chez un malade de 45 ans. Dans les polymyosites le taux est normal (Kibrick, Kivirikko). Kibrick signale un taux élevé dans un cas de dermatomyosite, sur 2 études.

Nous trouvons des taux sensiblement normaux dans un cas de crampes musculaires (17 mg) de faiblesse musculaire (29 mg) et de myosite ossifiante (22 mg) chez 3 adultes.

Huit sujets présentant un déficit musculaire important et âgés de plus de 70 ans ont été explorés :

PER...	(78 ans)	14 mg
HOA...	(76 ans)	32 mg
FAZ...	(71 ans)	21,8 mg
BEN...	(73 ans)	14,5 mg
SAN....	(73 ans)	22,5 mg
LUI...	(80 ans)	10 mg
MOT...	(80 ans)	17,5 mg
ROU...	(71 ans)	12,5 mg

Le chiffre moyen est de 18 mg/24 heures ; il est donc diminué par rapport aux taux de sujets témoins du même âge (21 mg). Or, dans le muscle sénile on peut noter une hypertrophie des fibres collagènes et une diminution du collagène soluble (Schaub, 1963).

Cette diminution de l'hydroxyprolinurie coïncide avec une diminution du taux des enzymes musculaires chez le vieillard (Recordier et Coll., 1967).

AFFECTIONS ENDOCRINIENNES ET METABOLIQUES

1° - Hormone de croissance.

L'administration d'hormone de croissance entraîne une augmentation de l'hydroxyprolinurie (Jasin, 1962 - Dull, 1963 - Katz, 1965 - Job, 1966 - Norriato, 1966). Dès l'arrêt du traitement, le taux redevient normal. L'hyperhydroxyprolinurie est sans doute en rapport avec une augmentation du pool des hypropeptides (Katz).

L'hydroxyprolinurie est basse dans l'insuffisance hypophysaire et les nanismes (Jasin, Bonnadonna, 1965 - Job). L'hormone de croissance entraîne une élévation de ce taux, alors que l'ACTH ne le modifie pas (Bonadonna).

Lors de l'acromégalie, l'hydroxyproline urinaire est élevée (Jasin, Dull, Benoît, 1963 - Kocher, 1966 - Lejeune, 1966) en corrélation avec l'évolutivité de l'affection. Les taux observés sont bas dans les formes stabilisées, ou après radiothérapie (Lejeune).

2° - Hormones thyroïdiennes.

L'administration d'hormones thyroïdiennes entraîne une augmentation de l'hydroxyprolinurie chez le rat et chez l'homme (Keiser, 1962 - Kivirikko, 1963). Il s'agit vraisemblablement d'une action catabolique sur le collagène récemment synthétisé et sur les fibres collagènes matures (Kivirikko) en parallèle avec une augmentation du métabolisme osseux traduit par l'accélération du turnover calcique (Klein, 1964).

L'hydroxyprolinurie est élevée dans l'hyperthyroïdie (Keiser, Dull, 1963 - Benoît, 1963 - Kivirikko, 1965 - Rubegni, 1965 - Job, 1966 - Kocher, 1966 - Lejeune, 1966). Chez trois malades nous trouvons un taux moyen de 40,5 mg/24 heures. Les taux indiqués par Lejeune sont beaucoup plus élevés (99 mg/24 heures sur 12 cas). Pour ce même auteur il existe une concordance avec l'évolutivité de la maladie, mais il n'existe pas de corrélations avec les données biologiques telles que le métabolisme de base ou les études isotopiques.

Dans l'hypothyroïdie, l'hydroxyprolinurie est abaissée (Keiser, Rubegni, Job). Nous trouvons dans un cas étudié un taux discrètement abaissé (24 mg/24 heures), mais pour Kivirikko cette diminution touche surtout l'hydroxyproline libre.

3° - Parathormone et thyrocalcitonine.

En 1963, Stern démontre un accroissement du taux d'hydroxyproline lorsqu'on ajoute de la parathormone à une culture de pariétaux de souris. Cet accroissement est parallèle à la résorption osseuse, mais ce résultat n'est pas retrouvé en 1964 par Tammes.

Quoi qu'il en soit, la parathormone accroît l'hydroxyprolinurie (Klein, 1962, 1963, 1964 - Dull, 1963 - Keiser, 1964 - Katz, 1965). Cette augmentation serait précédée d'une chute transitoire accompagnant l'hypercalciurie et ne se produirait qu'au moment où la calciurie revient à un taux normal (Klein). Pour Katz, l'hyperhydroxyprolinurie provient de l'action catabolique sur le tissu conjonctif (1). Chez le sujet normal l'apport d'extrait parathyroïdien augmente l'hydroxyprolinurie de 67 % le premier jour ; dans l'hypoparathyroïdie il l'augmente de 152 %.

Dans l'hyperparathyroïdie primaire l'hydroxyproline urinaire est augmentée (Klein, Dull, Baumgardner, 1963 - Lejeune, 1966) avec une valeur moyenne de 69 mg/24 heures (Kocher, 1966). Signalons par ailleurs que l'hydroxyproline plasmatique est également élevée si l'atteinte osseuse est sévère

Une technique d'exploration est proposée par Klein (1963) : une perfusion de calcium n'entraîne aucune modification de l'hydroxyprolinurie en cas d'adénome parathyroïdien. Cette technique est précisée par Keiser (1964) : une perfusion de 10 mg/Kg de calcium, administrée en 4 heures, entraîne une chute de l'hydroxyprolinurie pendant 12 heures, le retour à la normale se faisant en 24 heures. Chez le sujet normal, cette chute est de 23 à 43 % le jour de la perfusion. Pour Bell (1966), cette chute est au minimum de 14 % pour l'hydroxyprolinurie et la phosphaturie et elle ne se produit pas en cas d'hyperparathyroïdie, d'hypoparathyroïdie et de pseudohypoparathyroïdie. Pour Ney (1966) la chute de l'hydroxyproline urinaire peut se produire alors que la phosphaturie ne se modifie pas. Elle ne se produit pas chez le sujet normal recevant des doses constantes de parathormone. On se trouve en présence d'un test dynamique particulièrement intéressant dont nous n'avons pas encore une grande expérience (2). Par ailleurs, ce test ne semble pas toujours valable : Dubovsky (1967) rapporte que dans les 3 heures suivant une perfusion calcique, l'hydroxyproline urinaire chute — et dans les mêmes proportions — chez 8 sujets normaux, chez 8 hyperparathyroïdies primitives et 8 ostéomalacies.

En ce qui concerne la thyrocalcitonine, une perfusion de cette hormone chez le rat entraîne une chute de l'excrétion du calcium, du phosphore, du magnésium et de l'hydroxyproline (Kohler et Pechet, 1966). Rasmussen (1967) confirme cette chute : 50 mg de thyrocalcitonine en une heure entraînent une chute de 88 % et suppriment l'action de la parathormone sur l'hydroxyprolinurie.

---

(1) L'hypothèse d'une synthèse accrue de collagène peut être rejetée à la suite des travaux de Johnston (1965) : la parathormone entraîne une diminution de l'incorporation de la proline marquée par le collagène.

Pour Keiser, l'augmentation de l'hydroxyprolinurie résulte du catabolisme du collagène insoluble osseux par atteinte primitive de la matrice, ou après départ des sels.

---

(2) Deux sujets ont présenté une réponse anormale lors de l'épreuve de perfusion : chez le premier, le diagnostic d'hyperparathyroïdie est rejeté après exploration biologique, radiologique et isotopique. Le second présente une hyperparathyroïdie avec un taux moyen de 38 mg/24 heures.

4° - **Hormones sexuelles.**

Alors qu'il est noté une augmentation du taux d'hydroxyproline urinaire dans le syndrome de Turner (Laitinen, 1966), Katz (1965) signale que l'administration d'œstradiol ou d'œstriol chez la femme, à des taux comparables à ceux produits lors de la dernière grossesse, entraîne une chute de l'hydroxyproline qui peut atteindre 40 %. Cette diminution se voit également chez l'homme. Il s'agit vraisemblablement d'une action antagoniste à celles des hormones parathyroïdienne, thyroïdienne et de l'hormone de croissance, et une incorporation de l'hydroxyproline dans le collagène serait augmentée sans modification du pool de peptides.

Par ailleurs Benoît (1963) ne trouve aucune modification de l'élimination urinaire de l'hydroxyproline après anabolisants.

5° - **Hormones cortico-surrénaliennes.**

La cortisone, à doses thérapeutiques, ou même à fortes doses, ne semble pas modifier l'excrétion urinaire de l'hydroxyproline (Ziff, 1956 - Kivirikko, 1963) ; elle peut parfois diminuer le taux d'hydroxyproline libre et totale chez le jeune rat (Kivirikko, 1965) ou augmenter ce taux, à fortes doses (Hruza, 1965) et enfin le diminuer lors de traitement d'affections inflammatoires aussi bien dans le sang (Leroy, 1966) que dans l'urine (Hartman, 1966). Cette action semble donc variable et sans doute peu importante : ainsi dans la maladie de Cushing, l'hydroxyprolinurie est normale (Benoît, 1963 - Lejeune, 1966). L'effet de la cortisone est essentiellement antianabolisant et il ne semble pas y avoir d'effet sur le catabolisme des fibres collagènes (Kivirikko, Smith, 1965).

Chez 3 malades recevant de la cortisone depuis plus de 6 semaines (affections pulmonaires, Osler) les taux sont de 38 mg, 21 et 28 mg/24 heures, donc dans les limites de la normale.

6° - **Urémie chronique.**

Pour Dubovsky (1965, 1966, 1967) il existe dans l'urémie chronique une diminution de l'excrétion moyenne de l'hydroxyproline avec un taux plasmatique qui s'élève (constatée au cours d'hyperparathyroïdie). L'effet des perfusions calciques est diminué (Dubovsky) ou retardé (Bell, 1966).

Kocher (1966) décrit une augmentation de l'hydroxyprolinurie dans les ostéopathies lors d'affections rénales, mais l'auteur signale les difficultés d'appréciation dues à la diminution de la clearance des hypropeptides.

Chez 7 malades présentant une insuffisance rénale, le taux moyen est de 27 mg/24 heures, donc normal.

7° - **Diabète.**

Les premiers travaux concernant les diabétiques sont publiés en 1963 par Benoît qui, sur 12 malades, retrouve 11 taux normaux et un élevé (chez un sujet de 18 ans). Par contre, Bonadonna (1965)

propose un taux moyen de 18,9mg/24 heures chez le diabétique (le taux moyen de contrôle étant de 24,8) et ce chiffre augmente après hypophysectomie.

Notre expérience porte sur 68 analyses effectuées chez 40 malades. Si l'on considère cette population de diabétiques dans son ensemble, on trouve un taux moyen normal de 28 mg/24 heures. Mais si nous éliminons d'une part les associations susceptibles de modifier l'hydroxyprolinurie (paraplégie, coxarthrose, PCE et même atteinte rénale) et d'autre part les sujets soumis à un traitement vasodilatateur, nous trouvons sur les 27 malades restants un taux de 22 mg/24 heures (tableau XXIII bis) pour une moyenne d'âge de 59 ans. L'hydroxyprolinurie semble donc discrètement abaissée chez les diabétiques et ce fait est plus net chez les artéritiques (taux moyen : 20 mg/24 heures). Par contre chez les diabétiques soumis à un traitement vasodilatateur l'hydroxyprolinurie est en moyenne de 39 mg/24 heures.

Dans le cadre d'une étude sur l'os diabétique (Recordier et Coll., 1966) il semble qu'il existe une diminution du métabolisme osseux — confirmée lors d'explorations isotopiques — sans doute en rapport avec une modification de la circulation osseuse.

TABLEAU XXIII

Hydroxyproline chez les Diabétiques

NOMS	AGE	*Hydroxyproline par 24 heures*	*Association*
ELB...	64 ans	14 mg	+ néphrite
CAL...	74 ans	25 mg	+ artérite
LIE...	65 ans	15 mg	+ artérite
		70 mg (*)	
DEL...	51 ans	30 mg (*)	+ artérite
		35 mg (*)	
AYO...	49 ans	25 mg (*)	+ artérite
		25 mg (*)	
		16 mg	
		25 mg (*)	
DEY...	61 ans	37,5 mg (*)	
CUN...	51 ans	37,5 mg	
NEF...	86 ans	27 mg	
		40,5 mg	
CLA...	75 ans	42,5 mg (*)	+ artérite
		30 mg (*)	
GAR...	58 ans	25,5 mg	+ artérite
		31 mg (*)	
		36 mg (*)	
		28 mg (*)	
CAR...	59 ans	1,5 mg	
GIL...	75 ans	7,5 mg	
		22 mg	

(*) Sous traitement vasodilatateur.

NOMS	AGE	*Hydroxyproline par 24 heures*	*Association*
PER...	59 ans	27 mg	
		25 mg	
PAU...	68 ans	37 mg (*)	+ artérite
		20 mg	
GER...	37 ans	14 mg	+ artérite
		39,6 mg (*)	
CLA...	29 ans	29 mg	
AGO...	67 ans	39 mg	+ atteinte rénale
GRA...	73 ans	20 mg	+ néphrite
AZN...	60 ans	60 mg	+ paraplégie
SEL...	72 ans	17,6 mg	
POG...	60 ans	19,2 mg	
GAR...	35 ans	30 mg	
HER...	70 ans	65 mg	+ coxarthrose
		57 mg	+ gonarthrose
BER...	69 ans	39 mg (*)	
		61 mg (*)	
ONE...	53 ans	18,5 mg	
PRE...	66 ans	6 mg	
CAS...	57 ans	24 mg	
		24 mg	
		17 mg	
MIC...	56 ans	30 mg	
		30 mg	
JOR...	70 ans	36 mg	
ISR...	76 ans	21 mg	+ P.C.E.
		20,2 mg	
MAN...		33,6 mg	
CAR...	54 ans	13 mg	+ neuropathie
		10 mg	
		16 mg	
REY...	63 ans	18,6 mg	
GRI...	60 ans	31,2 mg	
SAL...	69 ans	45 mg	+ algodystrophie
		22 mg	
CAR...		24 mg	+ P. C. E.
TOU...	76 ans	22 mg	+ Artérite
		35 mg	
		17,5 mg (*)	
		19 mg (*)	
		36 mg (*)	
		28 mg	
BUR...		48 mg (*)	+ Artérite
FAL...	50 ans	14 mg	
NAR...	72 ans	18,5 mg	+ Artérite

TABLEAU XXIII bis

Taux moyens des diabétiques exempts de traitement vasodilatateurs, d'atteinte rénale importante ou d'atteinte ostéo-articulaire

CAL...	25 mg
LIE...	15 mg.
AYO...	16 mg
CUN...	37,5 mg
NEF...	34 mg
GAR...	25,5 mg
CAR...	1,5 mg
GIL...	15 mg
PER...	26 mg
PAU...	20 mg
GER...	14 mg
CLA...	29 mg
SEL...	17,5 mg
POG...	19 mg
GAR...	30 mg
ONE...	18,5 mg
PRE...	6 mg
CAS...	22 mg
MIC...	30 mg
JOR...	36 mg
MAN...	33,5 mg
CAR...	13 mg
REY...	31,5 mg
GRI...	18,5 mg
TOU...	28 mg
FAL...	14 mg
NAR...	18,5 mg

8° - Lithiase récidivante et hypercalciurie.

Au cours des lithiases récidivantes ou d'hypercalciurie isolée (ROU...), nous avons pu effectuer le dosage de l'hydroxyproline urinaire chez 8 malades.

N° 1 - ROL...	36 ans	27 mg	
N° 2 - PHA...	35 ans	107 mg	(taux moyen)
N° 3 - CAM...	19 ans	51 mg	
N° 4 - WIN...	45 ans	45 mg	(taux moyen)
N° 5 - CUT...	61 ans	32 mg	(taux moyen)
N° 6 - FER...	18 ans	33 mg	
N° 7 - ROU...	40 ans	33 mg	
N° 8 - NOI...	19 ans	30 mg	

Les problèmes diagnostiques ne semblent pas résolus par ces dosages : il n'existe pas de corrélations avec la calciurie (dans l'observation n° 2 la calciurie est dans les limites de la normale, par contre elle dépasse 400 mg/24 heures dans les observations n° 5, n° 6 et n° 7). Le diagnostic d'hyperparathyroïdie est rejetté dans les observa-

tions n° 2 et n° 6 après exploration isotopique et épreuves dynamiques. L'exploration chirurgicale dans l'observation n° 8 est négative malgré un tableau biologique évocateur.

Par contre les problèmes évolutifs semblent bénéficier de l'étude de l'hydroxyprolinurie. Sous l'influence de traitements divers (régime pauvre en calcium, phytate, sulfamides) l'hydroxyprolinurie passe de 107 à 72 (n° 2) et de 32 à 20 mg/24 heures (n° 5). Cette diminution, difficile à interpréter, coïncide avec une chute de la calciurie.

DIVERS

AFFECTIONS NEUROLOGIQUES

Il nous a semblé intéressant de réunir quelques observations de malades neurologiques, bien que l'interprétation des modifications de l'hydroxyprolinurie soit encore difficilement interprétable.

Au cours d'affections centrales, nous trouvons un taux normal dans un cas d'hémorragie méningée (21 mg/24 heures) et un cas de maladie de Parkinson (27 mg/24 heures lors de deux dosages). Par contre, au cours d'hémiplégie, nous trouvons un taux élevé : 5 dosages chez 3 malades révèlent un taux moyen de 40 mg/24 heures, les malades immobilisés depuis plus d'une semaine ayant des taux de 50 mg/24 heures.

Nous retrouvons la même différence entre malades grabataires et non grabataires : dans 3 cas de sclérose en plaques, nous trouvons un taux moyen de 15 mg/24 heures au stade de début, un taux moyen de 24 mg à un stade plus évolué et un taux de 74,5 mg/24 heures chez un malade grabataire.

Kibrick trouve un taux de 17,8 mg dans un cas de sclérose latérale amyotrophique. Nous mêmes trouvons une élimination de 45 mg/24 heures dans un cas.

L'influence de l'immobilisation apparaît également chez des malades paraplégiques ou paraparésiques. Chez les malades immobilisés depuis plus d'un mois, le taux moyen est de 54 mg alors que chez les sujets où l'immobilisation est discrète ou apparue depuis peu le taux moyen est de 33 mg/24 heures. Au cours des sciatiques on peut noter une corrélation avec la calciurie, en particulier chez un malade immobilisé (BAR...).

D'une façon générale on peut considérer que l'hydroxyprolinurie est normale au cours d'affections neurologiques diverses (taux moyen de 28,1 mg/24 heures), mais l'immobilisation chez de tels malades entraîne une hyperhydroxyprolinurie moyenne de 51 mg/24 heures.

TABLEAU XXIV

L'hydroxyprolinurie au cours d'affections neurologiques

	Immobilisation discrète ou récente			*Immobilisation prolongée*	
			Hémiplégie, hémorragie méningée		
ALT...	85 ans	2 mg	LAN...	72 ans	51 mg
CHE...	57 ans	55 mg	MIR...	64 ans	21 mg
			DUP...	68 ans	49 mg (m)
			Sclérose en plaques, sclérose latérale amyotrophique		
TRE...	37 ans	15 mg (m)	CLE...	58 ans	74,5 mg
ATH...	72 ans	25 mg (m)			
MUL...	50 ans	45 mg			
			Paraplégie, paraparésie		
COS...	76 ans	19 mg	NAK...	64 ans	55 mg
AST...	49 ans	30,5 mg	AZN...	60 ans	60 mg
PAN...	58 ans	50,5 mg	TES...	46 ans	46 mg
			Sciatique		
SAB...	75 ans	4 mg	BAR...	40 ans	50,5 mg
BON...	51 ans	45 mg			
MEZ...	33 ans	11 mg			
BAR...	53 ans	45 mg			
COH...	51 ans	35 mg			

Divers

FAI...	81 ans	15,5 mg (m)	Arthropathie nerveuse
FOR...	54 ans	27,5 mg	Zona
CAS...	76 ans	53 mg	Paralysie radiale
WAT...	70 ans	16,5 mg (m).....	Paralysie SPE
ROG...	68 ans	27 mg (m)	Parkinson
CAR...	54 ans	13 mg (m)	Neuropathie diabétique

Il semble beaucoup plus intéressant de détailler les 8 cas d'algodystrophie que nous avons étudiés, dans le cadre de l'influence des modifications vasculosympathiques sur le tissu osseux (Serratrice, 1966 - Eisinger, 1966 - Recordier, 1967).

— Au cours de poussée aiguë, l'hydroxyprolinurie est considérablement augmentée, puisque nous trouvons chez 3 malades des taux respectifs de 145 mg, 83 mg, 77,5 mg, soit un taux moyen de 102 mg/24 heures.

— L'influence d'infiltrations stellaires est manifeste : dans le premier cas, le taux passe de 145 à 13 puis 11 mg par 24 heures. Un contrôle effectué 10 jours après infiltration est à 33 mg. Dans le deuxième cas, le taux passe de 83 à 49 puis 5 mg/24 heures. Le malade revu quelques mois après les infiltrations présente un taux à 64 mg/24 heures. En l'absence de thérapeutique majeure, l'hydroxyprolinurie subit des fluctuations ; dans le troisième cas, elle passe de 77,5 à 35 puis à 55 mg/24 heures. L'hydroxyprolinurie de M^me^ BER... passe de 66 mg à 25 mg/24 heures (taux moyen) après irradiation du stellaire par ultra-sons.

— Enfin, en dehors des poussées, l'hydroxyprolinurie reste discrètement élevée (7 dosages chez 5 malades), à un taux avoisinant 36 mg/24 heures.

Ces constatations, associées à l'étude dynamique du métabolisme calcique nous laissent penser qu'il existe au cours des algodystrophies une hyperostéolyse permettant de définir la maladie d'un point de vue biologique.

TABLEAU XXV

Algodystrophies

M. SAM...	70 ans	145 mg	Syndrome épaule-main en poussée
M. VAS...	59 ans	83 mg	Poussée vasculosympathique et zona
M. CHE...	57 ans	77 mg	Syndrome épaule-main en poussée
M. SAL...	71 ans	22 mg 45 mg	Pied décalcifié douloureux
M. PIZ...	71 ans	49 mg	Syndrome épaule-main
M^me^ BER...	38 ans	66 mg	Syndrome épaule-main
M. MER...	45 ans	19 mg 26 mg	Algodystrophie du membre infér.
M. POM...	60 ans	20 mg	Syndrome épaule-main

AFFECTIONS DIVERSES ET THERAPEUTIQUES DIVERSES

Nous grouperons dans ce chapitre l'étude de l'hydroxyprolinurie au cours de maladies variées et l'influence de certaines thérapeutiques sur l'élimination urinaire de l'acide aminé.

— L'hydroxyprolinurie est étudiée dans diverses maladies malignes, en particulier le problème des néoplasies sans métastases osseuses a été l'objet de nombreux travaux. Les cancers sans atteinte squelettique n'entraînent aucune modification de l'hydroxyproline urinaire (Rubegni, 1962 - Platt, 1964 - Kocher, 1966 - Gruson, 1966). Il existe parfois une diminution du taux urinaire signalée par Kocher (1965) et par Bonadonna (1966) à propos d'une néoplasie de la thyroïde avec hypothyroïdie. Cet auteur estime par ailleurs qu'une hyperhydroxyprolinurie peut se voir lors de cancers disséminés, par destruction de collagène non osseux. Onze dosages effectués chez 7 malades présentant une néoplasie pulmonaire, gastrique, cérébrale ou prostatique, révèlent un taux normal de 30 mg/24 heures en moyenne.

Par contre, au cours d'affections paranéoplasiques nous trouvons dans 2 cas d'ostéoarthropathie hypertrophiante pneumique un taux moyen de 53 mg et un taux de 75 mg/24 heures.

Enfin, nous trouvons un taux très diminué dans un cas de réticulosarcome ganglionnaire.

Au cours de la maladie de Hodgkin, Leroy (1965) constate l'augmentation du taux d'une protéine plasmatique contenant de l'hydroxyproline.

TABLEAU XXVI

Affections malignes sans métastases osseuses

N° 1 -	40 mg	(thyroïde)
N° 2 -	20 mg	(thyroïde)
N° 3 -	15 mg	(estomac)
	19 mg	
N° 4 -	35 mg	(cérébral)
N° 5 -	42 mg	(poumon)
	19 mg	
	30 mg	
	25 mg	
N° 6 -	50 mg	(?)
N° 7 -	33 mg	(prostate)

avec ostéo-arthropathie hypertrophiante pneumique

N° 8 -	75 mg	(?)
N° 9 -	40 mg	(poumon)
	66 mg	

Hémopathies malignes

N° 10 -	6 mg	(réticulosarcome ganglionn.)

— L'hydroxyproline urinaire est étudiée dans les syndromes de malabsorption, où le taux moyen est augmenté (Laitinen, 1966), en particulier lorsqu'il existe des lésions osseuses (Kocher, 1966). L'hydroxyprolinurie est augmentée dans la sprue (Stawekar, 1964) et diminuée dans le kwashiorkor (Anasuya, 1966).

— Enfin, l'hydroxyprolinurie est augmentée dans le *psoriasis* (Korting, 1965), en corrélation avec l'extension des lésions. Nous-mêmes trouvons un taux de 44 et 45 mg/24 heures chez 2 malades. Massaro (1966) décrit une augmentation de l'hydroxyprolinurie dans la *sarcoïdose* lors d'affections disséminées et évoluant depuis moins de 2 ans. Dans les *brûlures*, le taux urinaire s'élève vers le 8me jour (Jackson, 1965) pour atteindre un maximum entre le 12me et le 17me jour (Estes, 1966), c'est-à-dire un peu plus tard que le maximum d'excrétion des autres acides aminés.

— Diverses thérapeutiques peuvent influencer l'hydroxyprolinurie. Bright (1965) décrit une chute de l'excrétion urinaire après diphénylhydantoïne (sans doute par diminution du pool de collagène soluble). Le phénylbutazone semble augmenter discrètement l'hydroxyprolinurie (Eisinger, 1967) puisque chez 8 malades étudiés, le taux moyen passe en quelques semaines de 31 mg à 42 mg/24 heures. Enfin les thérapeutiques vasodilatatrices augmentent l'hydroxyprolinurie (Recordier, 1967 - Eisinger, 1967) : après injections intra-artérielles de vasodilatateurs, l'hydroxyproline urinaire est élevée dans 5 cas sur 6. Par ailleurs, dans une étude effectuée sur 14 malades traités par hydergine, le taux moyen s'élève de façon significative, différence que nous avons constatée entre les diabétiques traités par vasodilatateurs et ceux qui ne le sont pas.

TABLEAU XXVII

Action de la phénylbutazone sur l'hydroxyprolinurie

	Contrôle	*Après une semaine de traitement*	*Premier mois de traitement*
N° 1	45 mg		58 mg
N° 2	19 mg	22 mg	
N° 3	7 mg	20 mg	33 mg
N° 4	45 mg	18 mg	42 mg
N° 5	40 mg		31 mg
N° 6	15 mg		63 mg
N° 7	65 mg	57 mg	
N° 8	45 mg		78 mg

TABLEAU XXVIII

Influence du traitement vasodilatateur

Infiltrations et sympathectomies

Observation	*Contrôle*	*Après traitement*
M^me GAR...	25 mg	31 mg
		36 mg
M. MER...	8 mg	19 mg
M^me AYO...	16 mg	25 mg
		25 mg
		25 mg
M. LIE...	15 mg	70 mg
M. PAU...	20 mg	37 mg
M. DEL...		30 mg
		35 mg
M^me GIR...	14 mg	39 mg
M^me TOU...	28,5 mg	17,5 mg
		19 mg
		36,5 mg
		29 mg

Injections intra-artérielles

TABLEAU XXIX

Influence d'un traitement vasodilatateur per os et de la durée de ce traitement

Hydergine

Observation	*Contrôle*	*Traitement*	*Traitement de plus d'un mois*
N° 1 - MAI...	7,5 mg	28 mg	33 mg
N° 2 - DUP...		50 mg	34 mg
N° 3 - PIE...		59 mg	33 mg
N° 4 - MET...			7,5 mg
N° 5 - CLA...		21 mg	
N° 6 - ROU...	12,5 mg	34 mg	
N° 7 - ESC...	45 mg	41 mg	
N° 8 - MAN...		25 mg	
N° 9 - BUT...	9,5 mg	28 mg	48 mg
N° 10 - PAY...	28 mg	36 mg	38 mg
N° 11 - NAK...		50 mg	33 mg
N° 12 - BOU...	21 mg	54 mg	
N° 13 - MER...	26 mg	22 mg	
N° 14 - CAS...	31 mg	42 mg	

Hydergine et calcithérapie

L'influence des thérapeutiques majeures (infiltrations, injections intra-artérielles) est certaine. Le taux de référence est d'ailleurs bas chez ces artéritiques puisque — la moyenne d'âge étant de 53 ans — il est de 18,5 mg/24 heures. Cette action est nette, car sous traitement l'hydroxyprolinurie est doublée ; elle est transitoire — dans le cas de AYO..., le taux passe de 25 à 16 mg/24 heures lors de l'arrêt des injections intra-artérielles.

L'influence de l'hydergine est nette également. Le taux de contrôle est pratiquement normal chez les hypertendus (22 mg/24 heures avec une moyenne d'âge de 65 ans). Lors du premier mois de traitement, il est voisin de 35 mg pour revenir, par la suite, à 28 mg.

L'utilisation d'autres vasodilatateurs confirme cette action sur l'hydroxyprolinurie dans 3 autres cas.

Cette hyperhydroxyprolinurie est sans doute en relation avec des modifications de la circulation osseuse.

ERREURS CONGENITALES DU METABOLISME

— Hydroxyprolinémie.

Désordre métabolique caractérisé par une augmentation considérable de l'hydroxyproline libre dans le plasma (1) et l'urine avec une excrétion normale de l'hydroxyproline liée. Un cas a été décrit par Efron (1962) chez un enfant présentant un retard mental et une hématurie. Diverses études in vivo révèlent que la cause de l'affection est un déficit en un enzyme qui oxyde l'hydroxyproline en Δ 1-pyrroline-3hydroxy-5carboxylate.

Pour Klein (1965) des variations de l'activité de l'hydroxyproline oxydase peuvent expliquer l'augmentation du taux d'hydroxyproline libre avec excrétion normale d'hydroxyproline liée que l'on observe dans diverses maladies.

— Hyperprolinémie.

Cette affection est caractérisée par une augmentation de la proline plasmatique et d'une hyperaminoacidurie touchant la proline, la glycine et l'hydroxyproline. Il semble exister deux variétés de ce désordre métabolique (Efron, 1966 - Scriver, 1964), le type 1 est associé à une néphropathie héréditaire avec anomalies congénitales, est dû à un déficit en proline oxydase. Le type 2 sans affection rénale est dû à un déficit de Δ 1-pyrroline-5 carboxylate déshydrogénase.

— Nous ne nous attarderons pas sur les affections caractérisées par une hyperaminoacidurie généralisée ; signalons simplement que l'hydroxyprolinurie est particulièrement augmentée dans la galactosémie et dans la maladie de Wilson (Cubillo-Ferreira, 1961).

---

(1) 0,20 à 0,40 μ M/ml.

CLASSIFICATION DES DYSHYDROXYPROLINURIES

1. **Hyperhydroxyprolinuries**

— PHYSIOLOGIQUES.

Sujet jeune.

Grossesse.

— PATHOLOGIQUES.

Majeures : cancer secondaire des os, maladie de Paget, algodystrophies, hyperthyroïdie, hyperparathyroïdie, acromégalie.

Modérées : ostéomalacie, rachitisme, ostéoporose d'immobilisation, R.A.A. et rhumatisme subaigu, syndrome para-néoplasique, psoriasis, sarcoïdose, brûlures, collagénoses en poussée, polyarthrite sévère, coxarthrose.

— THERAPEUTIQUES.

Hormones : thyroïdienne, parathyroïdienne, hormone de croissance.

Phénylbutazone, vasodilatateurs.

2. **Hypohydroxyprolinuries**

— PHYSIOLOGIQUES.

Sujet âgé.

— PATHOLOGIQUES.

Insuffisance hypophysaire, nanismes, hypothyroïdie, diabète, dénutrition, scorbut, affections musculaires.

— THERAPEUTIQUES.

Diphénylhydantoïne, thyrocalcitonine, œstrogènes.

Les hyperhydroxyprolinuries.

Nous venons de voir que les taux d'hydroxyproline urinaire les plus élevés se voient chez l'enfant, dans la maladie de Paget et les cancers secondaires des os. L'interprétation d'une telle modification est parfois délicate et il est difficile d'établir un diagnostic étiologique à partir d'un dosage.

Les hypohydroxyprolinuries.

Les taux d'hydroxyproline urinaire les plus bas se voient chez le sujet âgé, les myopathes et les diabétiques. Ce phénomène coïncide avec une diminution des échanges osseux que nous avons constatée lors d'explorations isotopiques. Il semble exister un syndrome biologique commun aux trois groupes de sujets et l'hypothèse d'un trouble de la circulation osseuse est vraisemblable dans les trois cas. Toutefois, les relations entre hypohydroxyprolinurie et insuffisance circulatoire osseuse d'une part et hyperhydroxyprolinurie et hyperémie osseuse restent à démontrer.

CONCLUSIONS

Ce travail porte sur le métabolisme normal et pathologique de l'hydroxyproline. Il nous a été donné d'utiliser une technique récente d'exploration, le dosage de l'hydroxyproline urinaire totale, et ce à des séries de malades porteurs d'affections diverses.

On estime actuellement que toute l'hydroxyproline dérive du collagène, et cet acide aminé est en relation spécifique avec le tissu conjonctif. L'hydroxyproline du collagène ne dérive pas de l'hydroxyproline libre, mais surtout de la proline, qui est hydroxylée sous forme liée.

Certaines étapes du métabolisme sont encore mal connues, mais quoi qu'il en soit, l'hydroxyprolinurie reflète les modifications du collagène de l'organisme, en particulier les formes les plus actives.

L'hydroxyproline est excrétée de façon relativement constante, surtout sous forme de peptides, l'hydroxyproline libre ne représente qu'un pourcentage très minime de l'excrétion totale. De nombreuses techniques de dosage ont été proposées mais depuis quelques années ces techniques sont à la fois plus simples et plus précises, et les travaux sur l'hydroxyprolinurie se multiplient.

Les résultats obtenus doivent tenir compte de nombreux facteurs, en particulier du régime, et surtout de l'âge : les chiffres obtenus chez l'enfant sont très élevés, ceux du vieillard sont légèrement abaissés.

L'hydroxyproline urinaire est utilisée comme un index du métabolisme du collagène. L'intérêt actuel se porte sur les maladies osseuses, le squelette renfermant plus de la moitié du collagène de l'organisme.

Les résultats obtenus lors de maladies du collagène sont encore peu interprétables.

L'hydroxyproline urinaire est extrêmement élevée dans la maladie de Paget, et lors de métastases osseuses. Cette hyperhydroxyprolinurie se retrouve également dans l'acromégalie, l'hyperparathyroïdie, plus rarement dans les myélomes.

Lors de rhumatismes inflammatoires, l'hydroxyprolinurie est élevée, mais dans l'ensemble les modifications retrouvées dans les affections articulaires sont relativement discrètes.

Dans les affections musculaires le taux urinaire est sensiblement diminué, en particulier chez l'enfant.

Dans l'hyperthyroïdie, le taux est élevé de façon significative. Il est diminué dans les nanismes, les retards de croissance.

Enfin, des modifications de l'hydroxyprolinurie ont été signalées dans les brûlures, dans certaines affections cutanées, dans le syndrome de Marfan, de même que sous l'influence de diverses thérapeutiques.

Nos travaux personnels portent sur 500 dosages.

Il semble que les thérapeutiques vasodilatatrices augmentent de façon significative le taux d'hydroxyproline urinaire, mais de façon transitoire.

Chez le sujet âgé, le taux normal d'hydroxyproline urinaire est modérément abaissé.

Au cours des algodystrophies l'hydroxyprolinurie semble fortement augmentée.

Chez le diabétique, l'hydroxyproline urinaire est discrètement diminuée, si l'on élimine les malades soumis à un traitement vasodilatateur.

Enfin, dans les myopathies, le taux d'hydroxyprolinurie est également diminué, bien que l'appréciation d'un tel résultat soit plus difficile.

On peut ainsi individualiser sur le plan pratique des syndromes d'hypohydroxyprolinurie et d'hyperhydroxyprolinurie. Cette classification est cependant provisoire.

Lu et approuvé,

Le Président :
A.-M. RECORDIER.

Vu et approuvé,

Le Doyen :
H. GASTAUT.

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS E., GOLDSTONE. — Hydroxyproline metabolism.
« J. Biol. Chem. » (1960) - **235** - 3.492, 3.499, 3.504.

ALLISON D. J., WALKER A., SMITH Q. T. — Urinary hydroxyproline : creatinine ratio of human at various ages.
« Clin. Chim. Acta » (1966) - **14** - 729.

ANDERSON J., BANNISTER D. W. et TOMLINSON. — Total urinary hydroxyproline excretion in normal human subjects.
« Clin. Sci. » (1965) - **29** - 583.

ASBOE-HANSEN G. — Hormonal effects on connective tissue.
« Physiol. Rev. » (1958) - **38** - 446.

ATERMAN K. — Studies in fibrosis of the liver induced by carbon tetrachloride. II. A quantitative studie of the effects of cortisone on fibrosis of the liver
« Arch. Path. » (Chicago) (1954) - **57** - 12, 25.

BATES W. K., Mac GOWEN J., TALMAGE R. V. — Influence of parathyroïd on plasma hydroxyproline levels.
« Endocrinology » (1962) - **71** - 189.

BAUMGARDNER G., STAUFFER M., CONNOR T. B. — Bone matrix metabolism in parathyroïd disease (abstract).
« Clin. Res. » (1963) - **11** - 214.

BEKHOR I. J., BAVETTA L. A. — Studies on determination of hydroxyproline.
« Analyst. Chem. » (1961) - **33** - 11.807.

BELL N. H., COLWELL J. A., SAVAL F., DEL GRECO F. et CASEY D.-E. — Effects of calcium infusion on urinary hydroxyproline and phosphorus : evaluation as a diagnosis test.
« J. Clin. Endocrinol. Metab. » (1966) - **26** - 677.

BENOIT F. L., THEIL G. B., WATTER R. H. — Hydroxyproline excretion in endocrin disease.
« Metabolisme » (1963) - **12** - 1.072, 82.

BERGMAN M. — Cité par NEUMAN et LOGAN.
« J. Biol. Chem. » (1935) - **110** - 471.

BOCCI F. et FORCONI S. — Hydroxyproline in pregnancy.
« Biol. Abs. » (1966) - **47** - 66 215.

BONADONNA G. — Total urinary hydroxyproline excretion in diabetics before and after hypophysectomy ; and after growth hormon in adulte hypopituitarism.
« Metabolism » (juillet 1965) - **14** - 832, 35.

BONADONNA G., MERLINO M. J., MYERS W. P. L. et SONENBERG M. — Urinary hydroxyproline and calcium metabolism in patients with cancer.
« New-England J. Med. » (1966) - **275** - 298.

BOREL J. P., CARANJOT J. M. et JAYLE M. F. — Un mode de fractionnement des peptides urinaires contenant de l'hydroxyproline.
« Clin. Chem. Acta » (1967) - **16** - 409.

BOUCEK R. J., NOBLE N. L. — Metabolism of collagen. Appearance and disappearance of (14 C) hydroxylysine in rat connective tissue.
« Biochem. J. » (1961) - **80** - 148.

BOUCEK R. J., NOBLE N. L., WOESSNER J. F. — The effects of tissue age and sex upon connective tissue metabolism.
« Ann. N.Y. Acd. Sci. » (1959) - b **72** - 1.016.

BOULANGER P., BISERTE G. et COURTOT F. — Cités par PLAQUET.
« Bull. Soc. Chim. Biol. » (1952) - **34** - 366.

BOURILLON R. et VERNAY J. L. — Two hydroxyproline containing glycopeptides from normal human urine.
« Biochim. Biophys. Acta » (1966), **117,** 319.

BOUTHILLIER L. P., BINETTE Y. et POULIOT G. — Transformation de l'acide gamma hydroxyglutamique en alanine et en acide glyoxylique.
« Canad. J. Biochim. et Physiol. » (1956), **34,** 661.

BOWES J. H., ELLIOT R. G., MOSS J. A. — Nature and structure of collagen.
London, Butterworth's scientific publications (1953) - 199.

BRIGHT N. H. — Effect of diphenylhydantoin on proline and hydroxyproline excretion in rat.
« Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. » (1965) - **120** - 463.

BURTON D., HALL D. A., KEECH M. K., REED R., SAXI H., TURNBRIDGE R. E.,

WOOD M. J. — Apparent transformation of collagen fibrils into "elastin".
« Nature » (Lond.) (1955), **176,** 966.

CASUCCIO C. — Osteoporosis. Biochemical and biophysical research in bone ageing.
« Proc. Roy. Soc. Med. » (1962), **55,** 663.

CEBECAUER L. et TRNAVSKY L. — Collagen metabolism in the human body.
« Vnitrni Lekar » (1966), **12,** 339.

CESSI F. S. et CESSI C. — The estimation of hydroxyproline in protein hydrolysat. In structure and function of connective and skeletal tissue (1966).

CHERIAN M. G. et RADHAKRISHNAN A. N. — Isolation and characterization of a new glycopeptide containing hydroxyproline from human urine.
« Indian J. Biochem. » (1966), **3,** 101.

CHIUMELLO G. et del GUERCIO M. J. — Hydroxyproline excretion during the substitude treatment of hypothyroïdism and hypopituitarism dwarfism.
« Minervia Pediat. » (1965), **17,** 1.069.

CHRISTIAENS L., BIZERTE G., FONTAINE G. et FARRIAUX J. P. — Proline et hydroxyproline urinaire en pédiatrie.
« Ann. Pediatr. Sem. Hôp. » (1965) - **12** - 789.

CHVAPIL M. — Changes in free and bounded hydroxyproline during the development of normal and cortisone-treated chick embryos.
« Physiol. Bohemoslov » (1959), **8,** 186-194.

CLUTTON R. F., SCHOENHEIMER R. et RITTEMBERG D. — Cités par STETTEN.
« J. Biol Chem. » (1940), **132,** 227.

CRANE C. W. et NEUBERGER A. — The digestion and absorption protein by normal man.
« Biochem. J. » (1960), **74,** 313.

CURZON et GILTROW. — Cités par PLAQUET.
« Nature » (1953), **172,** 336.

CUSWORTH D. — Amino-acid excretion in man.
Thèse London University.

CUSWORTH D. C., DENT C. E. — Renal clearance of amino acid in normal adults and in patients with amino-aciduria.
« Biochem. J. » (1960), **74,** 550.

DAKIN H. D. — Cités par NEUMAN et LOGAN.
« J. Biol. Chem. » (1920), **44,** 429.

DAUGHADAY W. H., MARIZ I. K. — The formation of free hydroxyproline by rat cartillage "in vivo".
« J. Biol. Chem. » (1962), **237,** 2.831.

DENT C. E., WALSHE J. M. — Amino-acid metabolism.
« Brit. Med. Bull. » (1954), **10,** 247.

DEVINE J. — Cité par NEUMAN et LOGAN.
« Biochem. J. » (1941), **35,** 443.

DOOLAN P., HARPER H., HUTCHIN M. et SHREENE W. — Cités par TREMOLIERES.
« J. Clin. Invest. » (1955), **74,** 1.247.

DUBOVSKY J. — Hydroxyproline, proline and some other important amino acids of collagen in diffuse osteopathies.
« Acta Univ. Carol. » (Med.) (1966), **12,** 133.

DUBOVSKY J., HRBA J. et PALOVSKY V. — Acute effect of calcium infusion on hydroxyproline.
« Clin. Chem. Acta » (1967), **17,** 107.

DUBOVSKY J., PALOVSKY V. et DUBOVSKA E. — Plasma hydroxyproline and proline in primary hyperparathyroïdism and in chronic uremia.
« Clin. Chem. Acta » (1966), **12,** 230.

DULL T. A., HENNEMAN P. H. — Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bones.
« New-England J. Med. » (1963), **268,** 132-134.

DULL T. A., CAUSING L., HENNEMAN P. H. — Urinary total hydroxyproline as an index of connective tissu turnover in bone.
« J. Cli. Invest. » (1962), **41,** 1.355.

EFRON M. L., BIXBY E. M., PALATTO L. et PRYLES C.V. — Hydroxyprolinemia associated with mental deficiency.
« New-England J. Med. » (1962), **267,** 1.193.

EFRON M. L. — Disorders of proline and hydroxyproline metabolism. in Metabolic basis of inherited disease.
Stanbury Ed. 1966.

EISINGER J., SERRATRICE G. et RECORDIER A. M. — A propos des effets des interventions sympathiques sur le métabolisme phosphocalcique.
« Rhumatologie » (1966), **18,** 9-357.

EISINGER J. — Influence de la phénylbutazone sur le métabolisme phosphocalcique.
A paraître.

EISINGER J. — Hydergine et hydroxyproline urinaire.
« Sud-Médical et Chirurgical » (1967) - 2541.

ESTES F. L. et BLOKER T. G. — Amico-acid excretion after thermal burns.
« Texas Reptes Biol. Med. » (1966), **24,** 54.

FAGLIA. — Significance of the evaluation of urinary hydroxyproline in some bone diseases.
« Atti Acad. Med. Lombard. » (1965), **20,** 286.

FILLIAT M., COTTE J. et BRUNET M. — Méthode pour déterminer l'hydroxyproline urinaire.
« Patho. Biol. » (1966), **14,** 762.

FINK C. W., JASIN H. et ZIFF M. — Growth and urinary hydroxyprolin excretion.
« Abstract 89 - Soc. Ped. Res. » (1962).

FIRSCHEIN H. E. et SHILL J. P. — The determination of total hydroxyproline in urine and bone extracts.
« Anal. Biochem. » (1966), **14,** 296.

FISCHER E. — Cité par FRIBERG.
« Ber. d. Deutsch. Chem. Gesellach. » (1902), **35,** 2.660.

FISCHER E. et SUZUKI U. — Cité par GREENSTEIN.
« Ber. » (1905), **37,** 2.843.

FREY J. — A method of detection and determination of the normal value of serum hydroxyproline.
« Biochem. Biophys. Acta » (1965), **111,** 440.

FREY J. — Valeur de l'exploration de l'hydroxyprolinémie et de l'hydroxyprolinurie dans l'étude des désordres du métabolisme du collagène.
« J. Méd. Lyon » (1964), **45,** 1.547.

FRIBERG O. — Effect of adrenocortical hormones on hydroxyproline concentration of heart and skeletal muscle.
« Thèse » Helsinki (1957).

GENEVOIS L. — Traité de chimie biologique.
Presses Universitaires de France (1957).

GENNARI C., RUBEGNI M., FORCONI S. et ROMANO S. — Correlation between hydroxyprolinurie alkaline phosphatasemia and 45 Ca dynamics.
« Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. » (1965), **41,** 508.

GERBER G. B., ALTMAN K. I. — Mechanism of collagen synthesis.
« Nature » (London) (1961), **189,** 813-14.

GERBER G., GERBER G., ALTMAN K. I. — Turnover of collagen labeled with proline C 14 in young rats.
« J. Biol. Chem. » (1960), **235,** 2.653.

GERBER G., GERBER G. et ALTMAN K. I. — Studies ont the metabolism of tissue proteins.
« J. Biol. Chem. » (1960), **235,** 2.653.

GERBER G., GERBER G., ALTMAN K. I. — Some interrelated aspects of proline and hydroxyproline metabolisme.
« Nature » (London) (1960), **185,** 767-768.

GOIDANICH, LENZI L. et SILVA E. — Urinary hydroxyproline excretion in normal subjects and in patients with primary disease of bones.
« Clin. Chem. Acta » (1965), **11,** 35.

GOLDSTONE A. et ADAMS E. — Metabolism of gamma hydroxyglutamic acid.
« J. Biol. Chem. » (1962), **237,** 3.476.

GOLDSTONE A. et ADAMS E. — Further metabolic reactions of hydroxyglutamate.
« Biochem. Biophys. Res. Comm. » (1964), **16,** 71.

GOTTLIEB A. A., PETERKOFSKY B. et UDENFRIEND S. — Use of collagenase to identify enzymatically formed collagen and a hydroxyproline - deficient intermediate.
« J. Biol. Chem. » (1965), **240,** 3.099.

GOULD B. S. et WOESSNER J. F. — Cités par WOLF.
« Journ. Biol. Chem. » (1957), **226,** 289.

GRANT R. A. — Estimation of hydroxyproline by the auto analyser.
« J. Clin. Path. » (sept. 1965), **18.**

GREEN N. M., LOWTHER D. A. — Formation of collagen hydroxyproline in vitro.
« Biochem. J. » (1959), **71,** 55-66.

GREENSTEIN J. P. et WINITZ M. — Chemistry of the amino-acids.
Wiley and Sons Ed. (1961), **3.**

GROSS J. — Studies on the formation of collagen.
« J. Exp. Med. » (1958), **107,** 247-263 et 265.

GRUSON M., RYCKEWAERT A., HIOCO D., LANHAM C. et de SEZE S. — L'hydroxyprolinurie dans les cancers secondaires des os.
« Patho. Biol. » (1966), **14,** 210.

GRUSON M., RYCKEWAERT A., HIOCO D., LANHAM C. et de SEZE S. — L'hydroxyprolinurie au cours des cancers secondaires des os.
« Revue du Rhumatisme » (janvier-février 1966), **33,** 23.

GRUSON M., MIRAVET L., HIOCO D. — Corrélations entre hydroxyprolinurie et paramètres cinétiques (^{45}Ca) dans les maladies osseuses.
« Ann. Biol. Clin. Fr. » (1967), **25,** 711.

GRUSON M., LANHAM C., SAMUEL J., HIOCO D., RYCKEWAERT A. et de SEZE S. — Intérêt du dosage de l'hydroxyproline urinaire en pathologie osseuse et ostéoarticulaire.
in « Actualité Rhumatologique » (1966). L'Expansion Ed. 1967.

HAKOMORI S., KAWAUCHI H. et ISHIMODH T. — Cités par SATWEKAR. — On the naturally occuring glyco-peptides of urine and of connective tissue.
« Biochem. Biophys. Acta » (1962), **65,** 546.

HAMILTON P. B., ORTIZ P. J. — Proline and hydroxyproline determination of the sum of their alpha nitrogen.
« J. Biol. Chem. » (1950), **187,** 733.

HARKNESS R. D., MARKO A. M., MUIR H. M., NEUBERGER A. — Metabolism of collagen and other proteins of skin of rabbits.
« Biochem. J. » (1954), **56,** 558.

HARKNESS R. D., MORALEE S. E. — The time, course and route of loss of collagen from the rat's uterus during post-partum involution.
« J. Physiol. » (Lond.) (1956), **132,** 502.

HARTMANN F. — Die hydroxyprolinauss cheindung in urin von normal personen urd patienten mit rheumarischem erkraukungen.
« Klin. Wschr. » (1966), **44,** 1.053.

HARTMANN F. — Investigation on the pathogenesis of connective tissue damage in experimental lathyrism. Urinary hydroxyproline and hexose urine determinations in lathyric rat.
« Z. Rheumaforch » (1966), **25,** 161.

HAUSMANN E. et NEUMAN W. F. — Conversion of proline to hydroxyproline and its incorporation into collagen.
« J. Biol. Chem. » (1961), **236,** 149.

HIOCO D., GRUSON M., RYCKEWAERT A. et de SEZE S. — Intérêt et signification de l'hydroxyproline urinaire dans les maladies osseuses.
« Sem. Hôp. » (1966), **42,** 2.947.

HIOCO D., GRUSON M., RYCKEWAERT A. et de SEZE S. — Intérêt et signification de l'hydroxyproline urinaire en pathologie osseuse.
« Ann. Biol. Clin. Fr. » (1967), **25,** 725.

HIRTHE D. et LINDENHAYN K. — Proline and hydroxyproline excretion in aseptic necroses.
« Beitr. Orthop. Traum. » (1966), **13,** 608.

HOSLEY H. F. — Hydroxyproline excretion in malignant neoplasic disease.
« Arch. Inter. Med. » (Chicago) (1966), **118,** 563.

HOSLEY H. F. et TAFT E. — Hydroxyproline excretion in cancer.
« Proc. Am. Assoc. Cancer Res. » (1965), **6,** 30.

HERYCH J., CHVAPIL M. — Conversion of proline into hydroxyproline and their incorporation into hydroxyproline containing compounds in skin slices of chicken enbryos.
« Biochem. Biophys. Acta » (1962 b), **65,** 170-172.

HRUZA Z. et HLAVACKOVA V. — Age changes in hydroxyproline excretion following stress.
« Gerontologia » (1965), **11,** 76.

HUTTERER F., SINGER E. J. — A modified method for hydroxyproline determination.
« Analyt. Chem. » (1960), **32,** 556-58.

JACKSON D. S. — The formation and removal of collagen.
« Biochem. J. » (1957), **65,** 277.

JACKSON S. H. — The urinary excretion of free and peptide amino-acids by a patient with thermal burns.
« Clin. Chem. Acta » (1965), **12,** 389.

JACKSON D. S., BENTLEY J. P. — On significance of extractable collagen.
« J. Biophys. Biochem. Cytol. » (1960), **7,** 37.

JACKSON D. S., FESSLER J. H. — Isolation and properties of a collagen soluble in salt solution at neutral pH.
« Nature » (London) (1955), **176,** 69.

JASIN H. E., FINK C., SMILEY W. S., ZIFF M. — Effects of growth hormone on total urinary hydroxyproline.
« Chi. Res. » (1962), **10,** 34.

JASIN H. E., FINK C. W., SMILEY J. D., ZIFF M. — Influence of growth on total urinary hydroxyproline.
« J. Clin. Invest. » (1962), **41,** 1.368.

JASIN H. E., FINK C., WISE W., ZIFF M. — Relationship between urinary hydroxyproline and growth.
« J. Clin. Invest. » (1962), **41,** 1928-1935.

JASIN H. E., ZIFF M. — Relationship between soluble Collagen and urinary hydroxyproline in the lathyritic rat.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (NY.) (1962), **110,** 837-41.

JEPSON J. B. et SMITH I. — Multiple dipping procedure in paper chromatography : specific test for hydroxyproline.
« Nature » (1953), **172,** 1.100.

JOB J. C., SIZONENKO P., PAKEY J. P., PAKEY P., BOURDON R. et ROSSIER A. — Urinary hydroxyproline in the normal child and in thoose with retarded growth.
« Arch. Franç. Pediat. » (1966), **23,** 679.

JOHNSTON C. C., DEISS N. P. — Parathyroid hormon and urinary hydroxyproline.
« Metabolism » (1965), **14,** 523-29.

JOHNSTON C. C., DEISS W. P. et MINER E. E. — Bone matrix biosynthesis in vitro. II - Effect of parathyroid hormon.
« J. Biol. Chem. » (1962), **237,** 3.560.

JONES C. R., BERGMAN M. W., KITTNER P. J., PIGMAN W. W. — Urinary hydroxyproline excretion in Marfan's syndrom as compared with age matched controls.
« Proc. Soc. Exp. Biol. Med. » (1964), **116,** 931.

JOSEPH R., RIBIERRE M., JOB J. C., GIRAULT M. — Maladie familiale associant des convulsions à début très précoce, une hyperalbuminorachie et une hyperamino-acidurie.
« Arch. Franç. Pédiât. » (1958), **15,** 374.

KAMYNINA R. F. et POVERENNYI A. M. — Content of acid mucopolysaccharides and hydroxyproline in urine of children suffering from rheumatic fever.
« Vop. Reumatzma » (1966), **1,** 17.

KAO K. Y. T., HILKER D. M., Mac GAVACK T. H. — Connective tissue. V. Comparison of synthesis and turnover of collagen and elastin tissues of rat at several ages.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (N.Y.) (1961), **106,** 135.

KAO K. Y. T., HOCH H., VERNIER C. M., Mac GAVACK T. H. — Metabolism of collagen in bones of the young rats.
« Fed. Proc. » (1962), **21,** 168.

FATZ F. H. et KAPPAS A. — The effect of natural estrogens on hydroxyproline excretion in man.
« J. Clin. Invest. » (1965), **44,** 1.063.

KATZ E., PROCKOP D. J. et UDENFRIEND S. — Precursors of the hydroxyproline and ketoproline in actinomycin.
« J. Biol. Chem. » (1965), **240.**

KEISER H. R., GILL J. R., SJOERDSMA A., BARTTER F. — Relation between urinary hydroxyproline and parathyroïd function.
« J. Clin. Invest. » (1964), **43,** 1.073.

KEISER H. R., LEROY E. C., UDENFRIEND S. et SJOERDSMA A. — Collagen like protein in human plasma.
« Science » (1963), **142,** 1.678.

KEISER H. R., SJOERDSMA A. — Effect of thyroid hormone on collagen metabolism.
« J. Clin. Invest. » (1962), **41,** 1.371.

KIBRICK A. C., HASHIRO C. C., SAFIER L. B. — Hydroxyprolin peptides of urines in arthritics patients and control on a collagen free diet.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (N.Y.), (1962), **109,** 473.

KIBRICK A. C. E., HASHIRO C. Q., SCHUTZ R. S., WALTERS M. I. et MILHORA A. T. — Prolylhydroxyproline in urine : its determination and observations in muscular dystrophy.
« Clin. Chem. Acta » (1964), **10,** 344.

KIVIRIKKO K. I. — Hydroxyproline-containing fractions in normal and cortisone treated chick embryos.
Thèse Helsinki (1963).

KIVIRIKKO K. I. — Specific activities of free neutral-salt. Soluble and insoluble hydroxyproline after administration of 14 C-proline to chick embryos.
« Acta Chem. Scand. » (1963), C **17,** 270-72.

KIVIRIKKO K. I. — Studies with 14 C-proline on the action of cortisone on the metabolism of collagen in the rat.
« Biochem. Pharmacol. » (1965), **14,** 1.445.

KIVIRIKKO K. I., KOIVUSALO M., LAITINEN O., LAMBERG B. A. — Hydroxyproline in the serum and urine of patients with hyperthyroïdism.
« J. Cl. Endocr. » (1964), **24,** 222.

KIVIRIKKO K. I., KOIVUSALO M., LAITINEN O., LIESSMAA M. — Effect of thyroxine to the hydroxyproline of rat urine and skin.
« Acta Physiol. Scand. » (1963), **57,** 462-467.

KIVIRIKKO K. I. et LAITINEN O. — Clinical significance of urinary hydroxyproline determinations in children.
« Ann. Paediat. Fenn. » (1965), **11,** 148.

KIVIRIKKO K. I. et LAITINEN O. — Effect of cortisone on the hydroxyproline in the serum and urine of young rats.
« Acta Physiol. Scand. » (1965), **64,** 356.

KIVIRIKKO K. I. et LAITINEN O. — Urinary 14 C-hydroxyproline in thyroxine-treated rats after the administration of 14 C-proline.
« Acta Chem. Scand. » (1965), **19,** 1.781.

KIVIRIKKO K. I., LAITINEN O. et LAMBERG B. A. — Value of urine and serum hydroxyproline in the diagnosis of thyroid disease.
« J. Clin. Endocrinol. Metab. » (1965), **25,** 1.347.

KIVIRIKKO K. I., LIESMAA M. — A colorimetric method for determination of hydroxyproline in tissue hydrolysates.
« Scand. J. Chim. Lab. Invest. » (1959), **11,** 128-133.

KIVIRIKKO K. I., LIESMAA M. — Effects of cortisone and age on the hydroxyproline and proline concentration of blood and urine in the rat.
« Acta Endoc. » (Kbh) (1958), **27,** 441-45.

KIVIRIKKO K. I., LIESMAA M., LUUKKAINEN T. — Effects of growth hormone and of pregnancy on the hydroxyproline concentration of the blood of rats.
« Acta Endocr. » (Kbh) (1958), **27,** 118-22.

KLEIN L. — Effect of calcium infusion on urinary hydroxyproline and phosphorus in metabolic bone disease (abstract).
« Clin. Res. » (1963), **11,** 298.

KLEIN L. — Urinary hydroxyproline and serum alkaline phosphatase during fracture healing in chronic paraplegia.
« Clin. Res. » (1965), **13,** 418.

KLEIN L., ALBERTSEN K., CURTISS P. H. Jr. — Urinary hydroxyproline in hyperthyroidism.
« Metabolism » (1962), **11,** 1.023-1.027.

KLEIN L., CURTISS P. H. Jr. — Effects of parathyroid extract upon the urinary excretion of peptides hydroxyproline.
« Fed. Proc. » (1962), **21,** 206.

KLEIN L., CURTISS P. H. — The effect of vitamin D on urinary hydroxyproline in vitamin D deficiency rickets and resistant rickets.
« J. Bones Jt Surg. » (1963), **45 A,** 1.542.

KLEIN L., CURTISS P. H. Jr. — Urinary hydroxyproline as an index of bone metabolism in dynamic studies of metabolic bone disease.
« Blackwell », Oxford (1964).

KLEIN L., CURTISS P. H., DAVIS J. H. — Collagen beakdown in thermal burns.
« Surg. Form. » (1962), **13,** 0000.

KLEIN L., LAFFERTY F. W., PEARSON O. H., CURTISS P. H. Jr. — Correlation of urinary hydroxyproline serum alkaline phosphatase and skeletal calcium turnover.
« Metabolism » (1964), **13,** 272.

KLEIN L. R. et TEREE T. M. — Biochemical defects - hydroxyprolinuria.
« New-England J. Med. » (1965), **273,** 77.

KLEIN L. et TEREE T. M. — Skeletal metabolism in early infancy - urinary hydroxyproline.
« J. Pediat. » (1966), 69, 266.

KOBRLE V., CHVAPIL M. — Isolation of peptides containing hydroxyproline from animal tissues.
« Nature » (Lond.) (1961), a **190,** 909-910.

KOCHER P. — Etude de l'hydroxyprolinurie dans les ostéopathies.
« Patho. Biol. » (1966), **14,** 1.020.

KOCHER P., VUILLE R., NOVARINO D. et COURVOISIER B. — Etude de l'hydroxyprolinurie dans les ostéopathies.
« Helv. Med. Acta » (1965), **32,** 480.

KOEVOET A. L. — The determination of hydroxyproline in urine.
« Clin. Chem. Acta » (1965), **12,** 232.

KOLOR M. G., ROBERTS H. R. — A new reagent for the detection of hydroxyproline on paper chromatograms.
« Arch. Biochem. » (1957), **70,** 620.

KORTING G. W. et HOLSMAN H. — Hydroxyproline excretion in the urine of patients with skin diseases.
« Klin. Wochschr. » (1965), **43,** 361.

KOWALEWSKI K. — Effect of cortisone on hydroxyproline in liver, gastric tissue skin and bone of male rats.
« Acta Endoc. » (1961), **38,** 427.

KOWALEWSKI K. — Effects of steroids on bone formation.
Protein Metabolism Gross Ed. 238-267.

KRAMER H., LITTLE K. — Nature and structure of collagen.
London Butterworth's scientific publications (1953).

KRONER T. D., TABROFF W. et Mac CARR J. J. — Cités par PLAQUET.
« J. Amer. Chem. Soc. » (1955), **77,** 3.356.

LAITINEN O., NIKKILA E. A. et KIVIRIKKO K. I. — Hydroxyproline in the serum and urine. Normal values and clinical significance.
« Acta Med. Scand. » (1966), **179,** 275.

LANG K. — Eine mikromethode sur vestimmung des prolins und des oxyprolins Hoppe.
« Seylers. Z. Physiol. Chem. » (1933), **219,** 148.

LANG K. et MAYER V. — Cités par ADAMS.
« Biochem. Z. » (1953), **324,** 237.

LANG K. et SCHOUDT G. — Uber prolinoxydase.
« Biochem. Ztschr. » (1951), **322,** 1.

LAPIERRE C. M. — Remaniement du tissu conjonctif.
Maloine (1965).

LEACH A. A. — Notes on the modification of the Neuman and Logan method for the determination of hydroxyproline.
« Biochem. J. » (1960), **74,** 70, 71.

LEE. — Urinary hydroxyproline in diseases involving bone and metabolisme.
« Med. J. Aust. » (1964), **1,** 992.

LEJEUNE E., RUITTON P., NOEL G., VOLLE L., BOUVIER M., BERTRAND J. N. et GRABER-DUVERNAY B. — Le dosage de l'hydroxyproline en rhumatologie.
« Revue du Rhumatisme » (1966), **33,** 30.

LENZI, RAVENNI, RUBEGNI, DEL GIOVANE. — The significance of urinary hydroxyproline in osteoporosis.
« Tau Minerva Medica » (juin 1963), **5** n° 6, 155, 8.

LEROY E. C., CARBONE P. P. et SJOERDSMA A. — Elevated plasma levels of a hydroxyproline containing protein in hodgkin's disease.
« J. Lab. Clin. Med. » (1966), **67,** 891.

LEROY E. C., KLEIN L. — General correlation of serum alkaline phosphatase and hydroxyproline in metabolic bone disease.
« J. Clin. Invest. » (1964), **43,** 6, 1.250.

LEROY E. C., KLEIN L., CURTISS P. — The effect of vitamin D on urinary hydroxyproline in vitamin D deficiency rickets and resistant rickets.
« Journ. of Bone and joint Surg. » (1963), **45 A,** 1.542.

LEROY E. C. et SJOERDSMA A. — Clinical significance of hydroxyproline - containing protein in human plasma.
« J. Clin. Invest. » (1965), **44,** 914.

LEROY E. C., WOLFF S. M. — Variations in plasma levels of a hydroxyproline containing protein with fever and inflammation.
« Arthritis Rheumat. » (1966), **9,** 281.

LEUSCH H. — Cité par FRIBERG - ber. d. deutsch.
« Chem. Gesellsch » (1937), **38,** 1.905.

LEUSCH H., BORMANN K. — Ber. d. deutsch.
« Chem. Gesellesch. » (1919), **52,** 2.086.

LEUSCH H., BREWSTER J. F. — Ber. d. deutsch.
« Chem. Gesellsch. » (1913), **46,** 986.

LEVINE C. — Conversion of proline to hydroxyproline in rat skin in vitro.
« Fed. Prat. » (1962), **21,** 169.

LINDSTEDT S., PROCKOP D. J. — Isotopic studies on urinary hydroxyproline as evidence for rapidly catabolized forms of collagen in the young rat.
« J. Biol. Chem. » (1961), **236,** 1.399, 1.403.

LOWTHER D. A., GREEN N. M., CHAPMAN J. A. — Morphological and chemical studies of collagen formation.
« J. Biophys. Biochem. Cytol. » (1961), **10,** 373.

LUKENS L. N. — Evidence for the nature of the precursor that is hydroxylated during the biosynthesis of collagen hydroxyproline.
« J. Biol. Chem. » (1965), **240,** 1.661.

Mac FARLANE W. D. et GUEST G. H. — Cités par NEUMAN et LOGAN - Canad.
« J. Res. Sect. B. » (1939), **17,** 139.

Mac KUSICK V. A. — Heritable disorders of connective tissue.
Mosby - Company Ed. (1966).

MANDL J. — Collagenases and elastases. in advances in enzymology and related subject.
« Nord. Ed. » (1961), **23,** 163.

MANNER G., GOULD B. S. — Collagen biosynthesis : the formation of an S.R.N.A. hydroxyproline complex.
« Fed. Proc. » (1962), **21,** 169.

MANNER G. et GOULD B. S. — Collagen biosynthesis : the formation of hydroxy-proline and soluble RNA complexes of proline and hydroxyproline by chick embryo in vivo and by a subcellular chick embryo system.
« Biochem. et Biophys. Acta. » (1963), **72,** 243.

MARTIN C. J., MERCENHACEN S. E., PROCKOP D. J. — Influence of scurvy and lathyrism on hydroxyproline excretion.
« Nature » (Lond.) (1961), **191,** 1.008, 1.009.

MASSARO D., HANDLER A. E., KATZ S. et YOUNG R. C. — Excretion of hydroxyproline in patients with sarcoidosis.
« Ann. Rev. Resp. Dis. » (1966), **93,** 929.

MATTOON J. — The biosynthesis of amino acids. In biogenesis of natural compounds.
Bernfeld. Ed. (1963).

MECHANIC C., SKUPP S. J., SAFIER L. B., KIBRICK A. C. — Isolation of two peptides containing hydroxyproline from urines of a patient with rheumatoid arthritis.
« Arch. Biochem. » (1960), **86,** 71.

MEILMAN E. et URIVETZKY M. — Studies on urinary hydroxyproline.
« Arth. an Rheum. » (1961), **4,** 119.

MEILMAN C., URIVETZKY M., RAPOPORT C. — Urinary hydroxyproline peptides.
« J. Clin. Invest. » (1963), **42,** 40.

MEUNIER P. — Dynamique du remaniement osseux.
Thèse, Lyon (1967).

MILAZZO. — Determination of urinary hydroxyproline in some primary bone diseases of the facial area.
« Arch. Ital. Otal. » (1966), **77,** 45.

MITOMA C., SMITH T. E. — In vitro incorporation of proline - C 14 - as hydroxyproline - C 14 - in collagen.
«Fed. Proc. » (1957), **16,** 222.

MITOMA C., SMITH T. E., DAVIDSON J. P., UDENFRIEND S., DA COSTA F. M., SJOERDSMA A. — Improvements in method for measuring hydroxyproline ; applications to human urine.
« J. Lab. Clin. Med. » (1959), **53,** 970, 976.

MITOMA C., SMITH T. E., FRIEDBERG F., RAYFORD C. R. — Incorporation of hydroxyproline into tissue proteins by chick embryos.
« J. Biol. Chem. » (1959), 234, 78, 80.

MIYADA D. S., TAPPEL A. L. — Colorimatic determination of hydroxyproline.
« Analyt. Chem. » (1956), **28,** 909, 10.

MORRIONE T. C., SEIFTER S. — Alteration in the collagen content of the human uterus during pregnancy and Post-Partum involution.
« J. Exp. Med. » (1962), **115,** 357.

MORROW G., KIVIRIKKO K. I. et PROCKOP D. J. — Hydroxyprolinuria and increased excretion of free hydroxyproline in early infancy.
« J. Endocrinol. Metab. » (1966), **26,** 1.012.

MOSKOWITZ R. W., KLEIN L. et KATZ F. H. — Urinary hydroxyproline levels in an aged population ; A study of non osteoporotic and osteoporotic patients.
« Arthritis and Rheumatism. » (Février 1965), **8,** n° 1.

NAGEOTTE S., GUYON L. — Les propriétés physico-chimiques du collagene et leurs conséquences morphologiques.
« C.R. Ass. Anat. » (1934), **29,** 408, 433.

MUHLBACH R., HIRTHE D. et LINDENHAYN K. — Zur ausscheidung des gebundenen hydroxyprolines ales ausdruck von verandungen.
« Z. Arztl. Fortbild. » (1966), **60,** 597.

NEUBERGER A., SLACK H. G. B. — The metabolism of collagen from liver bone, skin and tendon collagen in the rat normal.
« Biochem. J. » (1953), **53,** 47-52.

NEY R. L., CRILL J. R., KEISER H. R. et BATTER F. C. Regulation of hydroxyproline excretion in hyperparathyroidism.
« J. Clin. Endocrinol. Metab. » (1966), **26,** 815.

NEUMAN R. E., LOGAN M. A. — The determination of hydroxyproline.
« J. Biol. Chem. » (1950), 184, 299-306.

NEUMAN R. E., LOGAN M. A. — Determination of collagen and elastin in tissues.
« J. Biol. Chem. » (1950), **186,** 549.

NEUMAN R. E. — Hydroxyproline content of the developping chick embryo.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (N.Y.) (1950), **75,** 37-39.

NORRIATO G., FABLIA G., SILVESTRINI F. — Induced modifications by the human G.H. on urinary elimination of hydroxyproline in subjects affected by dwarfism of pituitary and thyroid origine.
« Metabolismo » (1966), **7,** 51.

OGLE J. D., LOGAN M. A. et ARLINGHAUS R. B. — Cités par WINITZ.
« Federation Proc. » (1961), 201.

OGLE J. D. — 3-Hydroxyproline, a new amino acid of collagen.
« J. Biol. Chem. » (1962), **237,** 3.667.

OGLE J. D., ARILINGHAUS R. B. et LOGAN M. A. — 3-Hydroxyproline, a new amino acid of collagen.
« J. Biol. Chem. » (1965), **240.**

ORIEKHOVITCH V. N. — Les procollagènes, composition chimique - Propriétés et rôles biologiques.
In : II[e] Congrès International de Biochimie : Symposium sur la biogenèse des protéines.
Paris - Masson et Cie (1953) - P. 62.

OYE J. — The amount of free hydroxyproline in human blood serum. Scand.
« J. Clin. Lab. Invest. » (1962), **14,** 259.

PASIEDA A. E., MORGAN J. F. — Specific determination of hydroxyproline in biological materials.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (N.Y.) (1956), 92, 96, 99.

PECK W. A. et DIRKSEN T. R. — The metabolism of bone tissue in vitro.
« Clin. Orthop. » (1966), **48,** 243.

PERRONE J. C., SLACK H. G. B. — The metabolism of collagen from Skin, bone and liver in the normal Rat.
« Biochem. J. » (1951), **49,** 72.

PETERKOFSKY B. et UDENFRIEND S. — Conversion of proline. C 14 to peptide bound hydroxyproline. C 14 in a cell free system from chick embryo.
« Biochem. Ras. Commun. » (1961), **6,** 184.

PETERKOFSKY B. et UDENFRIEND S. — Conversion of proline to collagen hydroxyproline in a cell free system from chick embryo.
« J. of Biol. Chem. » (1963), **238,** 3.966.

PICOU D., ALLEYNE G. A. O., SEAKINS A. — Hydroxyproline and creatinine excretion in infantile protein malnutrition.
« Clin. Sci. » (1965), 29, 517.

PIEZ K. A. et LIKINS R. C. — Cités par MITOMA.
« J. Biol. Chem. » (1957), **229,** 101.

PROCKOP D. J., UDENFRIEND S. et LINDSTEDT S. — A simple technique for measuring the specific activity of labeled hydroxyproline in biological materials.
« J. Biol. Chem. » (1961), **236,** 1.395, 1.398.

PROCKOP D. J., UDENFRIEND S. — A specific method for the analysis of hydroxyproline in tissues and urine.
« Analyt. Biochem. » (1960), **1,** 228, 239.

PROCKOP D., SJOERDSMA A. — Significance of urinary hydroxyproline in man.
« J. Clin. Intest. » (1961), **40,** 843.

PROCKOP D. J., PETERKOFSKY B., UDENFRIEND S. — Studies on the intracellular localization of collagen synthesis in the intact chick embryo.
« J. Biol. Chem. » (1962), **237,** 1.581, 84.

PROCKOP D. J., KEISER H. R., SJOERDSMA A. — Gastro intestinal absorption and renal excretion of hydroxyproline peptides.
« Lancet. » (1962), 527.

PROCKOP D. A., KAPLAN A., UDENFRIEND S. — Oxygen - 18 Studies on the convertion of proline to hydroxyproline.
« Biochem. Biophys. Res. Commun. » (1962), 162, 66, **9.**

PROCKOP D. J. — Isotopies studies on collagen degradation and the urinary excretion of hydroxyproline.
« J. Clin. Invest. » (1964), 43, 453.

PROCKOP D. J. — Collagen degradation and urinary hydroxyproline.
« Fed. Proc. » (1962), **21,** 169.

POLONOWSKI M. — Biochimie médicale.
Masson Ed. (1952).

PLATT W. D., DOOLITLE L. H., HARTSHORN J. W. — Urinary hydroxyproline excretion in metastatic cancer of bone.
« New Engl. J. Med. » (1964), 271, 287.

PLAQUET R., BISERTE C., BOULANGER P. — Acides aminés et polypeptides des milieux biologiques. VIII. Formes combinées de proline, d'hydroxyproline et de glycocolle dans l'urine humaine.
« Bull. Soc. Chim. » (Paris) (1960), **42,** 393.

PLAQUET R. — Les formes combinées des acides aminés urinaires.
Thèse pharmacie (Lille) (1955).

RADHAKRISHNAN A. N. et GIRI K. U. — Cités par GREENSTEIN.
« Biochem. J. » (1954), **58,** 57.

RADHAKRISHNAN A. N., MEISTER A. — Conversion of hydroxyproline to pyrole - L - Carboxylic acid.
« J. Biol. Chem. » (1957), **226,** 559, 571.

RAVENNI G., RUBEGNI M. et DEL GIOVANE. — L'idrossiprolinuria nel soggetto normale.
« Boll. Soc. Etal. Biol. Sper. » (1962), **38,** 263, 266.

RAVENNI G., RUBEGNI M., GENNARI G. et FORCONI S. — Hydroxyprolinuria in Marfan's syndrome.
« Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. » (1965), **41,** 352.

RECORDIER A.-M., SERRATRICE G. et EISINGER J. — Ostéoporose des diabétiques.
Semaine des Hôpitaux de Paris (30 novembre 1966), **42,** 16.

RECORDIER A.-M., SERRATRICE G., EISINGER J., VALENTE P. et RAGNONI R. — Modifications de l'hydroxyprolinurie après thérapeutique à effet vasculaire.
« Rhumatologie » (1967), **19,** 6, 223.

RECORDIER A.-M., SERRATRICE G., ROUX H., EISINGER J. et AQUARON R. — Hydroxyprolinurie et enzymes musculaires.
A paraître.

RICH A., CRICK F. H. C. — The molecular structure of collagen.
« J. Molecul. Bio. » (1961), **3,** 483, 506.

ROBERTS E., KARNOFSKY D. A., FRANKEL S. — Influcence of cortisone on free hydroxyproline in the developing chick embryo.
« Proc. Soc. Exp. Biol. » (N.Y.) (1951), **76,** 289, 292.

ROBERTSON W. Van B., HIWETT J., HERMAN C. — The relation of ascorbic acid to the conversion of proline to hydroxyproline the synthesis of collagen in the carrageenan Granuloma.
« J. Biol. Chim. » (1959), **234,** 105, 108.

RODMAN G. P., CAMMARATA R. J. — Urinary excretion of hydroxyproline in progressive systemic sclerosis (diffuse scleroderma).
« Clin. Res. » (1963), **11,** 179.

ROGERS C. J., KIMMEZ J. R., HUTSCHIN M. E., HARPER H.A. — A hydroxyproline method of analysis for a modified gelatine in plasma an urine.
« J. Biol. Chem. » (1954), **206,** 553.

ROLOFF M., RATNER S. et SCHOENHEI R. — The biological conversion of ornithine into proline and glutamic acid.
« J. Biol. Chem. » (1940), **136,** 561.

ROSANO C. L. — Enzymic method for determination of hydroxyproline.
« Anal. Biochem. » (1966), **15,** 341.

ROY D. K. — Cité par KATZ.
« Natururissen Schofen » (1955), **42,** 181.

RUBEGNI M., GENNARI G., RAVENNI G., FORCONI S. et BENCINI M. — Urinary excretion of hydroxyproline in thyroid diseases.
« Boll. Soc. Ital. Sper. » (1965), **41,** 355.

RUBEGNI M., RAVENNI G., DEL GIOVANNI L. — Aumente dell'eliminazione urinarie dell'indrossiprolinia nei Processi osteolitici.
« Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. » (1962), **38,** 877.

RUBEGNI M., RAVENNI G., DEL GIOVANE L. — L'eliminazione urinaria dell'indrossiprolinia nell'artrite rhumatoide.
« Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. » (1962), **38,** 879.

SATWEKAR K. et RADHAKRISHNAN A. N. — Free and bound aminoacids in human urine from normal subjets and patients with tropical sprue.
« Clin. Chim. Acta. » (1965), **12,** 394.

SATWEKAR K. et RADHAKRISHNAN A. N. — Urinary excretion of hydroxyproline in tropical sprue.
« Clin. Chim. Acta. » (1964), **10,** 284.

SCHAUB M. C. — The ageing of collagen in the striated muscle.
« Gerontol » (1963), **8,** 16.

SCHREIER K. — Aminoacids in pre and post natal periods. In Aminoacid Pools. Holden Ed. (1962).

SCRIVER C. R., SCHAFER I. A. et EFRON M. L. — A new renal tubular amino acid transport system and a new hereditary disorder of amino acid metabolism.
« Nature » (London) (1961), **192,** 672.

SCRIVER C. R., SCHAFER I. A., EFRON M. L. — Evidence for a renal tubular amino acid transport system common to glycine - L - Proline and hydroxy - L - proline (ABSTRACT).
« J. Clin. Intest. » (1961), **40,** 1.080.

SCRIVER C. R., EFRON M. et SCHAFER J. — Renal tubular transport of proline hydroxyproline and glycine in health and in familial hyperprolinimia.
« J. Clin. Intest. » (1964), **43,** 374.

SCRIVER C. R. et GOLDMAN H. — Renal tubular transport of proline, hydroxyproline and glycine II. Hydroxyproline as a substrate and as inhibition in vivo.
« J. Clin. Intest. » (1966), **45,** 1.357.

SERRATRICE G., EISINGER J. et RECORDIER A.-M. — Considérations physiologiques sur l'innervation vasomotrice des os.
« Marseille Médical » (1967), **104,** 184.

SERRATRICE G. et EISINGER J. — L'os des myopathes.
Semaine des hôpitaux de Paris (1967), **43,** 2.042.

SEZE (de) S. et RYCKEWAERT A. — Maladie des os et des articulations.
Ed. Méd. Flammarion.

SHEEHAN J. C., SACHAU H. G. et CAWSON W. — Cité par KATZ.
« J. Amer. Chem. Soc. » (1957), **79,** 3.933.

SINEX F. M., VAN SLYKE D. D. — The source and state of the hydroxylysine of collagen.
« J. Biol. Chem. » (1955), **216,** 245, 50.

SINEX F. M. et VAN SLYKE D. D. — Cités par MITOMA - Federation.
« Proc. » (1957), **16,** 250.

SINEX F. M., VAN SLYKE D. D., CHRISTMAN D. R. — The source and stade of hydroxylisine of collagen. II. Failure of free hydroxylysine to serve as a source of the hydroxylysine or lysine of collagen.
« J. Biol. Chem. » (1959), **234,** 918, 21.

SJOERDSMA A., DAVIDSON J. D., UDENFRIEND S., MITOMA C. — Increased excretion of hydroxyproline in Marfan's syndrome.
« Lancet » (1958), **2,** 994.

SJOERDSMA A., UDENFRIEND S., KEISER H. et LEROY E. C. — Hydroxyproline and collagen metabolism clinical implications.
« Ann. Internal. Med. » (1965), **63,** 672.

SMILEY J. D., ZIFF M. — The metabolism of connective tissue.
« Ann. Rev. Med. » (1962), **13,** 287, 300.

SMILEY J. D., ZIFF M. — Urinary hydroxyproline and growth.
« Physiol. Rev. » (1964), **44,** 30.

SMITH D. A., NORDIN B. E. C. — The relation between calcium balance and hydroxyproline secretion in osteoporosis.
« Proc. Roy Soc. Med. » (1964), **57,** 868, 70.

SMITH R. H., JAKSON S. F. — Studies on the biosynthesis of collagen. II the conversion of 14 C.L. proline to 14 C - hydroxyproline by fowl osteoblast in tissue culture.
« J. Biophys. Biochem. Cytol. » (1957), **3,** 913, 22.

SMITH Q. T., RUKAVINA J. G., HAALAND E. M. — Cités par ALLISON.
« Acta Dermatol. Venereol. » (1965), 44, **45.**

SMITH Q. T. et ALLISON D. J. — Skin and femur collagen an urinary hydroxyproline of cortisone treated rats.
« Endocrinology » (1965), **77,** 785.

SMITH M. E. et GRENNBERG D. M. — Characterization of an enzime reducing Delta 1 - pyrroline - 5 - Carboxylate to proline.
« Nature » (London) (1952), **177,** 1.130.

SOGNNAES R. F. — Dental aspects of the structure and metabolism of mineralized tissues.
In Mineral Metabolism **I B** 686 - Academic Pres.

SOUPART P. — Free aminoacids of blood and urine.
In amino acid pools - Holden Ed. (1962).

STALDER K. — Determination of hydroxyproline in urine.
« Z. Anal. Chem. » (1965), **212,** 196.

STEGEMAN H. — Mikrobestimmung hydroxyprolin mit chloramin T und P - dimethylaminobensaldehyde.
« Hoppe Seylers. Z. Physiol. Chem. » (1958), **311,** 41, 45.

STETTEN M. R. et SCHOENHEIMER R. — The metabolism of L proline studied with the aid of deuterium and isotope nitrogen.
« J. Biol. Chem. » (1944), **153,** 113.

STETTEN M. R. — Mechanism of the conversion of ornithine into proline and glutamic acid in vivo.
« J. Biol. Chem. » (1951), **189,** 499.

STETTEN M. R. — Somme aspects of metabolism of hydroxyproline studied with aid of isotopic nitrogen.
« J. Biol. Chem. » (1949), **181,** 31, 37.

STERN B. D., MECHANIC G. L., GLIMCHER M. J., GOLDHABER P. — The resorption of bone collagen in tissue culture.
« Biochem. Biophys. Res. Commun. » (1963), **13,** 137.

STEWARD F. C. et POLLARD J. K. — Cités par KATZ.
« Nature » (London) (1958), **182,** 828.

STONE N., MEISTER A. — Biosyntesis of collagen hydroxyproline. Studies with tritiated proline.
« Fed. Proc. » (1962), **21,** 414.

STRECKER H. J. — The interconversion of glutamic acid and proline.
« J. Biol. Chem. » (1957), **225,** 825.

STEIN W. H. — Cité par PLAQUET.
« J. Biol. Chem. » (1953), **201,** 45.

STEIN W. H., MILLER E. G. — Composition of elastin.
« J. Biol. Chem. » (1938), **125,** 599.

STRAUSS B. et TEJARATCHI. — Biochemical abnormalities in Ehlers Danlos syndrome.
« Arc. Intern. Med. » (1966), **118,** 461.

TAGGART J. V. et KRAKAUL R. B. — Cités par ADAMS.
« J. Biol. Chem. » (1949), 177, 641.

TAMMES A. R. — Parathyroid hormone in collagen - Producing in tissue culture.
« Lab. Invest. » (1964), **13,** 1.234, 1.237.

TREMOLIERES J. — Aminoacides, peptides, proteines.
« Cahier n° 3 », A.E.C. Ed.

TRNAVSKY K., CEBECAUER I. et URSANSKA A. — Hydroxyroline in plasma and urine of patients with juvenile progressive polyarthritis.
« Fysiatr. Reumatol. Vestnil. » (1966), **44,** 87.

TROLL W., CANNAN R. K. — A modified photometric ninhydrin method analysis of amino and iminoacids.
« J. Biol. Chem. » (1953), **200,** 803.

TUNBRIDGE R. E. (Ed.) — Connective tissue.
Oxford, Backwell Scientific Publications (1957), p. 371.

UDENFRIEND S., WEISSBACH M., MITOMA C. — Metabolism of amino acids.
« Ann. Rev. Biochem. » (1960), **29,** 207, 260.

VIGNERON M. — Aminoacides, peptides, proteines.
« Cahier n° 1 », A.E.C. Ed. (1957).

VIS H.-L. — Aspects et mécanismes des hyper aminoaciduries de l'enfance.
Maloine Ed. (1963).

WAISMAN H. — Quelques nouvelles erreurs innées du métabolisme.
« Revue du Praticien » (1966), **16,** 3.591.

WEBBER W. A., BROWN J. L., PITTS R. F. — Interactions of aminoacids in renal tubular transport.
« Amer. J. Physiol. » (1961), **200,** 380.

WEBBER W. A. — Interaction of neutral and acidic aminoacids in renal tubular transport.
« Amer. J. Physiol. » (1962), **202,** 577.

WALDSCHMIDT-LEITZ E. et AKABORI S. — Cités par NEUMAN et LOGAN.
« Z. Physiol. Chem. » (1934), **224,** 187.

WESTALL R. G. — The amino acids and other ampholytes of urine. Three unidentified sustances excreted in normal human urine.
« Biochem. J. » (1955), 60, 247.

WHITEHEAD R. G. — Hydroxyproline creatinine ratio as an index of nutrition and status and rate of growth.
« Lancet » (sept. 1965), **2,** 567.

WISS O. — Uber line Mikrobestimmung des oxyprolins in blut und harn.
« Helv. Chim. Acta » (1949), **32,** 149.

WINITZ M. — Identification of the elusive amino acids pools.
Holden Ed. (1962).

WIRTSCHAFFER Z. T., BENTLEY J. P. — The influence of age and growth rate on the extractable collagen of skin of normal rat.
« Lab. Invest. » (1962), **11,** 316, 320.

WOODSON H. W., HIER S. W., SOLOMON J. D. et BERGHEIM O. — Cités par PLAQUET.
« J. Biol. Chem. » (1948), **172,** 613.

WOLF G., BERGER C. R. A. — The metabolism of hydroxyproline in the intact rat - incorporation of hydroxyproline into protein and urinary metabolitas.
« J. Biol. Chem. » (1958), **230,** 231, 240.

WOESSNER J. F. — Catabolism of collagen and non collcgen in protein in the rat uterus durings post-partum involution.
« Biochem. J. » (1962), **83,** 304, 314.

WOESSNER J. F. Jr. — The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid.
« Arch. Biochem. » (1961), **93,** 440, 47.

WOESSNER J. F. — Collagen degradation in involuting uterus.
« Fed. Proc. » (1959), **18,** 461.

ZIFF M., KIBRICK A., DRESNER E., GRIBEITZ H. J. — Excretion of hydroxyproline in patients with rheumatic and non-rheumatic diseases.
« J. Chem. Invest. » (1956), **35,** 579, 587.

ZIFF M. — The significance of urinary hydroxyproline peptide excretion.
« Proc. Roy. Soc. Med. » (1966), **59,** 9.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers Condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate,

Je promets et je jure, au nom de l'Etre Suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je donnerai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes Confrères si j'y manque.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 13

PREMIERE PARTIE : **DONNEES BIOLOGIQUES :**

1° - L'hydroxyproline 21

2° - Données biochimiques sur l'hydroxyproline et le collagène 26

3° - Etude physiologique 32

4° - Le dosage de l'hydroxyproline urinaire 35

5° - Signification de l'hydroxyprolinurie 42

DEUXIEME PARTIE :

L'HYDROXYPROLINURIE CHEZ LE SUJET NORMAL :

1° - Elimination urinaire de l'hydroxyproline chez le sujet adulte 50

2° - Variations physiologiques de l'hydroxyprolinurie .. 55

TROISIEME PARTIE : **L'HYDROXYPROLINURIE EN PATHOLOGIE**

1° - Maladies du collagène 64

2° - Affections ostéo-articulaires 65

3° - Affections musculaires 73

4° - Affections endocriniennes et métaboliques 75

5° - Divers 82

6° - Classification des dyshydroxyprolinuries 89

CONCLUSIONS 91

BIBLIOGRAPHIE 95